JUN 6 1939

Medical Library

BIOCHEMISCHE ZEITSCHRIFT

UNTER MITWIRKUNG
ZAHLREICHER FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN
VON
W. GRASSMANN
DRESDEN

306. BAND. 6. HEFT

AUSGEGEBEN AM 22. APRIL 1940

BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1940

Springer

300. Band 4. Heft

Seite

Spuhler, E. und J. Zimmermann: Über die Abhängigkeit der Empfindlichkeit der lebenden Zelle von der Temperatur. 373

Hartelius, Vilgot: Bildung von Verbindungen mit Affinität zum Kollagen. 381

Holzkrygare, Sigrid: Über [illegible] 392

Holzkrygare, Sigrid: Über [illegible] 403

Iwanoff, K.: [illegible] 414

Iwanoff, Kyrill und Alexis [illegible] 423

Iwanoff, Kyrill und Alexis [illegible] 439

Autorenverzeichnis 457

Titel und Inhaltsverzeichnis des Bandes

Über die Konkurrenz einiger Substrate um die Enzyme der lebenden Zellen der Bäckerhefe.

Von

E. Sperber und **J. Runnström.**

(Aus dem Wenner-Gren Institut für experimentelle Biologie der Universität Stockholm.)

(Eingegangen am 6. Februar 1939.)

Im allgemeinen hat man zu erwarten, daß die Geschwindigkeit des Abbaues zweier einer Zellsuspension zugesetzten Substrate voneinander unabhängig ist, wenn dieser Abbau auf verschiedenen Wegen vor sich geht. Sind aber ein oder mehrere Enzyme bei dem Abbau zweier Substrate gemeinsam, so kann eine Konkurrenz zwischen den Substraten um das Enzym oder die Enzyme stattfinden. In einem binären Substratgemisch wird das Substrat, das eine größere Affinität zu einem Enzym besitzt, das mit einer geringeren Affinität begabte Substrat mehr oder weniger vollständig verdrängen. Die relativen Konzentrationen der der Zelle angebotenen Stoffe werden natürlich für diese Erscheinung von Bedeutung sein. Bei lebenden Zellen muß auch die Permeabilität der Zelloberfläche für die betreffenden Stoffe berücksichtigt werden. Der in die Zelle schneller eindringende Stoff wird im Vorteil sein.

Wieland und seine Mitarbeiter haben im Laufe ihrer eingehenden Studien über den Abbau verschiedener Substrate auch einige Angaben über den Umsatz in Substratgemischen gemacht. *Wieland* und *Claren* (1) haben z. B. die Sauerstoffaufnahme untergäriger Bierhefe von der Münchener Löwenbrauerei nach Zusatz von 1. Alkohol, 2. Aldehyd, 3. Methylglyoxal und 4. Alkohol + Methylglyoxal gemessen. Die Umsatzgeschwindigkeit der Gemische „kommt nahe an die des am raschesten reagierenden Bestandteils heran, ohne sie zu übertreffen". Die angeführten Verfasser finden es deshalb wahrscheinlich, „daß es sich nur um *ein Enzym* handelt".

Im Laufe gewisser Studien, die für andere Zwecke angestellt wurden, haben wir bei Bäckerhefe analoge Erfahrungen gemacht. Es sind Sauerstoffaufnahme und Kohlensäurebildung gemessen worden. Außerdem ist aber die Abnahme der zugesetzten Substrate mit chemischen Methoden bestimmt worden. Die binären Gemische, die geprüft wurden, waren die folgenden: 1. Glucose + Alkohol, 2. Glucose + Brenztraubensäure und 3. Brenztraubensäure + Alkohol.

Methoden.

Zu den Versuchen wurde Bäckerhefe aus der Hefefabrik Rotebro (Oberhefe R) verwendet. Atmung und Gärung wurden manometrisch nach *Warburg* gemessen. 20 mg der abgepreßten Hefe (Trockensubstanzgehalt etwa 28 %) wurden in einem Bernsteinsäuresuccinat-Puffer (0,2 mol, $p_H = 5$) suspendiert. 1 ccm der Suspension wurde in einen konischen Atmungstrog mit Einsatz und zwei Anhängen gebracht; je 0,3 ccm einer Lösung der zu untersuchenden Substrate wurden in die Anhänge gebracht. Der Suspension des Hauptraumes wurde soviel Wasser zugesetzt, daß das totale Volumen nach dem Einkippen des Inhalts der Anhänge 2,4 ccm betrug. Die Einsätze wurden entweder mit 0,3 ccm 10 %iger KOH oder der gleichen Menge Wasser beschickt. In dem Apparat mit KOH wurde der Sauerstoffverbrauch gemessen; bei Kenntnis der Druckveränderungen in dem ähnlich beschickten Apparat, dessen Einsatz aber Wasser enthält, wird in bekannter Weise die Menge gebildeter Kohlensäure berechnet. Die Berechnung wurde dadurch erleichtert, daß wir über Apparate verfügen, die paarweise weniger als 1 % bezüglich des Volumens voneinander abweichen. Nach einer bestimmten Zeit wurden sämtliche oder gewisse Apparate aus dem Wasserbad herausgenommen und die Reaktionen durch Eiskühlung und Zusatz von 1 ccm 20 %iger Trichloressigsäure unterbrochen. Bei Versuchen mit Alkohol wurde statt Trichloressigsäure verdünnte Schwefelsäure zugesetzt. Von dem Inhalt des Atmungstroges wurde möglichst viel in ein Zentrifugenrohr gebracht, wonach die Hefezellen abzentrifugiert wurden. Die klare Lösung wurde abpipettiert und Proben von 1 ccm zur Analyse entnommen. Eine Probe enthielt folglich $^1/_{3,4}$ des in dem Atmungstrog befindlichen Volumens. Jedesmal wurden wenigstens zwei Apparate aus dem Wasserbad herausgenommen; bei dem einen war der Einsatz mit KOH, bei dem anderen mit Wasser beschickt. Die Parallelanalysen stimmten gut überein, ausgenommen, wenn Brenztraubensäure als Substrat diente. In diesem Falle wird mehr Substrat in dem Apparat verbraucht, in dem die Kohlensäure nicht absorbiert wird. Diese Erscheinung wurde in unserem Laboratorium zuerst von Frl. *Karlsson* beobachtet und wird an anderer Stelle ausführlicher geschildert und diskutiert werden. Die Versuche wurden im allgemeinen 2 bis 3 bis 4 Stunden fortgesetzt.

Der Alkohol wurde nach der Methode von *Widmark* (2) bestimmt. Die Methode der Alkoholbestimmung gibt nach den Angaben von *Widmark* Fehler von ungefähr $\pm$ 10 % bei einem Alkoholgehalt von 0,1 bis 0,3 mg in 0,1 ccm Blut. In unserem Falle wurde eine Probe von 0,3 ccm analysiert; wenn als Fehler bei der Bestimmung dieser Menge 0,01 mg Alkohol angenommen wird, würde der Fehler der ganzen Probe — 3,4 ccm — etwa 0,10 mg, d. h. 0,002 Millimol Alkohol betragen. Besonders in den Versuchen mit der Substratkombination: Glucose + Alkohol kommen die Fehler der Alkoholbestimmung störend zur Geltung. Da die Genauigkeit unserer Bestimmungen jedoch für unsere Zwecke genügend schien, ist keine Modifikation der Methode versucht worden.

In der Substratkombination Alkohol + Brenztraubensäure könnte letztere Verbindung, die als undissoziierte Säure flüchtig ist, die Alkoholbestimmung stören. Deshalb wurde vor dem Einfüllen der Proben etwas Natronlauge in den Einsatz des *Widmark*-Kolbens eingeführt. Wenn die Probe auf diese Weise einen Überschuß an Alkali enthält, stört die Brenztraubensäure die Alkoholbestimmung nicht.

Die Brenztraubensäure wurde nach *Fromageot* und *Desnuelle* (3) mit Cerisulfat in stark schwefelsaurer Lösung bestimmt. In der Probe, 1 ccm, wurde 1 ccm n/10 Cerisulfatlösung mit n H_2SO_4 versetzt. Man läßt die Probe 10 Minuten stehen, wonach der Überschuß der Ceriverbindung mit 0,02 n $FeSO_4$ titriert wurde. Da der von *Fromageot* und *Desnuelles* angegebene Indikator, Kaliumferricyanid, sich als nicht zweckmäßig herausstellte, wurde statt dessen laut den Anweisungen von *Kolthoff-Menzel* (4) Methylrot verwendet. Es kamen drei Tropfen 0,1 %iges Methylrot und 5 ccm des Schwefelsäure-Phosphorsäuregemisches nach *Knop* zur Anwendung. Da der Umschlag ziemlich langsam vor sich geht, muß die Titration bei Annäherung zu dem Endpunkt langsam ausgeführt werden.

Die Bestimmung der Glucose wurde in Anwesenheit von Alkohol mit Hypojodit nach *Willstätter* und *Schudel* (5) ausgeführt. Bei Anwesenheit von Brenztraubensäure kam dagegen die Orcinmethode in der Ausführung von *Sörensen* und *Haugaard* (6) zur Verwendung.

Experimentelles.

Substratkombination: Glucose + Alkohol.

Zu diesen Versuchen wurde verarmte Hefe benutzt. Diese wurde durch 18 Stunden langes Schütteln von Preßhefe in destilliertem Wasser gewonnen. Unter diesen Verhältnissen werden die Messungen durch die Eigenatmung nicht gestört. Nach der Verarmung der Hefe steigt die aerobe Vergärung der zugesetzten Glucose, im Vergleich zu der der nicht verarmten Preßhefe. Die aerobe Vergärung läßt sich berechnen, wenn man den respiratorischen Quotienten (RQ.) gleich 1 setzen darf.

Wir führen die folgenden Versuche an.

Die gute Übereinstimmung zwischen der „aeroben Gärung" und der Alkoholbildung berechtigt zu dem Schluß, daß RQ. in der Tat gleich 1 ist.

Aus Tabelle I geht eindeutig hervor, daß *der Alkohol in Gegenwart von Glucose, sogar bei geringerer Konzentration, überhaupt nicht angegriffen wird.*

Tabelle I.

20 mg Preßhefe, Trockengewicht etwa 5,5 mg, werden in dest. Wasser suspendiert und über Nacht geschüttelt. Dann wird die Hefe abgeschleudert, mehrmals gewaschen und schließlich in 1 ccm 0,2 mol. Bernsteinsäure-Succinatpuffer, $p_H = 5$, suspendiert. Totalvolumen (vgl. oben unter Methodik) 2,4 ccm. Alle Mengenangaben sind in Millimol pro Ansatz ausgedrückt. T. = 25°. Die Reaktion wurde nach 120 Minuten abgebrochen.

Versuch Nr.	Zusatz zu Beginn		Wiedergefunden		O_2-Verbrauch	CO_2 gebildet Total	„Aerobe Gärung" (CO_2—O_2)	Alkohol gebildet
	Alkohol	Glucose	Alkohol	Glucose				
1–2	0	0,0278	0,0054	0,0072	0,0231	0,0294	0,0063	0,0054
3–4	0,0494	0	0,0352	0	0,0225	0,0075	—	—
5–6	0,0494	0,0278	0,0560	0,0086	0,0250	0,0306	0,0056	0,0064
7–8	0	0	0	0	0,0006	0,0006	—	—

Tabelle II.

Die Hefe wurde wie oben behandelt. Der Versuch wurde nach verschiedenen Zeiten unterbrochen.

Versuch Nr.	Unterbrochen nach Min.	Zusatz zu Beginn		Wiedergefunden		O_2-Verbrauch	CO_2-Bildung Total	„Aerobe Gärung" (CO_2—O_2)
		Alkohol	Glucose	Alkohol	Glucose			
1–2	60	0	0,0555	0,0102	— *	0,0083	0,0179	0,0096
3–4	90	0	0,0555	0,0135	—	0,0141	0,0271	0,0130
5–6	120	0	0,0555	0,0168	—	0,0197	0,0345	0,0148
7–8	180	0	0,0555	0,0180	—	0,0302	0,0492	0,0190

* Die Glucose wurde in diesem Versuch nicht bestimmt. Gemäß anderer ähnlicher Versuche ist zu erwarten, daß nach 180 Min. noch rund 50 % der zugesetzten Glucose vorhanden sind.

Aus der Tabelle I kann weiter entnommen werden, daß RQ. bei der Oxydation des Alkohols gleich 0,33 ist. Dieser Wert, der nur der Hälfte des theoretischen Wertes entspricht, bedeutet, daß der Alkohol im Laufe des Versuchs nicht vollständig oxydiert worden ist. Ein Zwischenprodukt, wahrscheinlich Essigsäure, wird angehäuft.

Substratkombination: *Glucose + Brenztraubensäure.*

Zu diesen Versuchen wurde nicht verarmte Hefe, sondern direkt die an höheren Kohlenhydraten reiche Preßhefe verwendet. Wie in einer folgenden Mitteilung ausführlicher geschildert werden soll, dringt die Brenztraubensäure äußerst langsam in die verarmte Hefe ein. Dagegen dringt die Brenztraubensäure in die nicht verarmte Hefe rasch ein.

Tabelle III.

Die allgemeine Anordnung des Versuchs stimmt mit derjenigen der Versuche 1 und 2 überein. Die Hefe wurde nicht verarmt.

Versuch Nr.	Unterbrochen nach Min.	Zusatz zu Beginn		Wiedergefunden		O_2-Verbrauch	CO_2-Bildung
		Brenztraubensäure	Glucose	Brenztraubensäure	Glucose		
1	120	0,0390	0	0,0300	0	0,0148	—
2	120	0,0390	0	0,0282	0	—	?
3	180	0,0390	0	0,0252	0	0,0218	—
4	180	0,0390	0	0,0242	0	—	?
5	240	0,0390	0	0,0219	0	0,0261	—
6	240	0,0390	0	0,0185	0	—	?
7	120	0,0390	0,0578	0,0374	0,0346	0,0277	—
8	120	0,0390	0,0578	0,0378		—	0,0384
9	180	0,0390	0,0578	0,0364	0,0300	0,0408	—
10	180	0,0390	0,0578	0,0378		—	0,0506
11	240	0,0390	0,0578	?	0,0213	0,0534	—
12	240	0,0390	0,0578	0,0388		—	0,0705
13–14	120	0	0,0578	0	0,0342	0,0277	0,0351
15–16	180	0	0,0578	0	0,0298	0,0413	0,0484
17–18	240	0	0,0578	0	0,0218	0,0545	0,0641

In den Versuchen Nr. 1 bis 6 mit Brenztraubensäure allein kann die CO_2-Bildung aus den schon angeführten Gründen nicht berechnet werden. Die ungeraden Nummern bedeuten mit KOH beschickte Atmungströge, in denen also der O_2-Verbrauch gemessen wird. In diesen ist der Verbrauch an Brenztraubensäure etwas geringer als in den Apparaten mit geraden Nummern, in denen O_2-Verbrauch + Kohlensäurebildung gemessen wird.

Setzt man Brenztraubensäure allein zu der Hefesuspension, so wird sie im Laufe des Versuchs — 240 Minuten — stark oxydiert; wird aber gleichzeitig Glucose zugesetzt, bleibt die Brenztraubensäure intakt, während der Gehalt an Glucose mit etwa derselben Geschwindigkeit sinkt, unabhängig davon, ob Brenztraubensäure anwesend ist oder nicht. Dies ergibt sich aus einem Vergleich zwischen den Versuchsnummern 7 bis 12 einerseits und 13 bis 18 andererseits.

Aus den Versuchen der Tabelle III ergibt sich, daß *Glucose die Brenztraubensäure nahezu vollständig verdrängen kann.*

Substratkombination: Alkohol + Brenztraubensäure.

Auch in diesen Versuchen wurde aus den oben angeführten Gründen nicht verarmte Preßhefe als Material verwendet. Die folgende Tabelle gibt einige Ergebnisse wieder.

Tabelle IV.

Allgemeine Anordnung des Versuchs wie in der Tabelle I. Die Hefe wurde nicht verarmt.

Versuch Nr.	Unterbrochen nach Min.	Zusatz zu Beginn		Wiedergefunden		O_2-Verbrauch	CO_2-Bildung
		Alkohol	Brenztraubensäure	Alkohol	Brenztraubensäure		
1	120	0	0,0402	0	0,0294	0,0173	—
2	120	0	0,0402	0	0,0291	—	?
3	180	0	0,0402	0	0,0250	0,0238	—
4	180	0	0,0402	0	0,0226	—	?
5	240	0	0,0402	0	0,0209	0,0312	—
6	240	0	0,0402	0	0,0189	—	?
7	120	0,0570	0,0402	?	0,0301	0,0261	—
8	120	0,0570	0,0402	0,0483	0,0287	—	0,0265
9	180	0,0570	0,0402	0,0365	0,0250	0,0575	—
10	180	0,0570	0,0402	0,0373	0,0250	—	0,0513
11	240	0,0570	0,0402	0,0287	0,0210	0,0652	—
12	240	0,0570	0,0402	0,0287	0,0210	—	0,0520
13	120	0,0570	0	0,0374	0	0,0280	—
14	120	0,0570	0	0,0370	0	—	0,0107
15	180	0,0570	0	0,0238	0	0,0443	—
16	180	0,0570	0	0,0228	0	—	0,0179
17	240	0,0570	0	0,0128	0	0,0571	—
18	240	0,0570	0	0,0129	0	—	0,0179
19—20	210	0	0	0	0	0,0041	0,0047

Die ungeraden Nummern beziehen sich wiederum auf die Ansätze, in denen O_2-Verbrauch gemessen worden ist, während sich die Druckveränderungen in den Ansätzen mit geraden Nummern aus der Summe des O_2-Verbrauchs und der CO_2-Bildung zusammensetzen. Aus der Tabelle geht hervor, daß die Oxydation der Brenztraubensäure durch die Anwesenheit des Alkohols kaum verändert wird. Es wird sogar an anderer Stelle gezeigt werden, daß der Umsatz der Brenztraubensäure unter gewissen Verhältnissen durch Alkoholzusatz beträchtlich erhöht werden kann. *Die Oxydation des Alkohols wird dagegen durch die Anwesenheit der Brenztraubensäure beeinträchtigt.* Hier handelt es sich aber nicht um eine vollständige Verdrängung des Alkohols von den Enzymen, sondern nur um eine partielle Hemmung des Umsatzes. Wahrscheinlich ist der Grad der Verdrängung eine Funktion der Alkoholkonzentration.

Diskussion.

Bei der Konkurrenz um die Enzyme innerhalb der Zelle wird nach unseren Versuchen der Alkohol von der Glucose verdrängt. Aus der Tabelle I, Versuch Nr. 5 bis 6, geht hervor, daß die Glucose auch in sehr niedriger Konzentration den Alkohol verdrängen kann. Es ist einleitend schon hervorgehoben worden, daß die Permeabilität bei der Konkurrenz eine Rolle spielen muß. An und für sich dürfte aber Alkohol schneller als Glucose in die Zelle eindringen. Alkohol hat einerseits ein niedrigeres Molekularvolumen als Glucose, andererseits ist der Alkohol auch lipoidlöslich. Die schnelle Umwandlung der Glucose innerhalb der Zelle erhöht aber die Geschwindigkeit der Aufnahme der Glucose, vgl. *Runnström, Sperber* und *Feller* (7). Die Affinität der Glucose zu den Enzymoberflächen befördert mit anderen Worten ihre Aufnahme. Auch die größere Obeflächenaktivität des Alkohols scheint keine Rolle zu spielen. Nun ist es wohl so, daß der Abbau sowohl der Glucose wie des Alkohols durch mehrere Enzyme vermittelt wird. An der Konkurrenz sind vielleicht vor allem die gemeinsamen Glieder des Abbaues beteiligt, die auch unter der Wirkung gemeinsamer Enzyme abgebaut werden. In dem vorliegenden Fall käme vielleicht eine mit Acetaldehyd oder Essigsäure beginnende Reaktionskette in Betracht. Bei der Konkurrenz zwischen Alkohol und Brenztraubensäure muß es sich um dieselben Glieder handeln. Unsere Versuche können nicht entscheiden, weshalb unter diesen Verhältnissen das eine Substrat den Umsatz des anderen mehr oder weniger vollständig verhindert. Folgende Möglichkeiten können erwogen werden. Das erste gemeinsame Glied bei dem Abbau zweier konkurrierender Substrate kann verschiedene Konfigurationen haben. Das eine von diesen könnte eine größere Affinität zum Enzym haben als das andere. Es könnte die Anhäufung des ersten gemeinsamen Reaktionsgliedes eine verschieden hemmende Wirkung auf die einleitenden Reaktionen ausüben. Es wäre z. B. möglich, daß

eine gewisse Anhäufung des Acetaldehyds die Bildung dieses Stoffes aus Alkohol stärker hemmt als seine Bildung aus Glucose. Eine Möglichkeit wäre schließlich, daß die räumliche Anordnung der Enzyme derart wäre, daß gewisse Reaktionsketten begünstigt werden.

Tamyia und *Ogura* (8) vertreten die Ansicht, daß zum Verständnis des Atmungsmechanismus die Annahme einer gewissen räumlichen Anordnung der Enzyme innerhalb der Zelle erforderlich ist.

Besonders bemerkenswert ist, daß die Glucose die Brenztraubensäure verdrängen kann. Aus Tabelle III ist zu entnehmen, daß unter den vorliegenden Versuchsbedingungen 60% der Glucose in 240 Minuten verbraucht werden. Die Geschwindigkeit des Glucoseverbrauchs wird überhaupt nicht geändert, wenn gleichzeitig Brenztraubensäure, wie in den Versuchen Nr. 7 bis 12 der Tabelle III, zugesetzt wird. Die Konzentration der Brenztraubensäure verändert sich dabei kaum. Wenn Brenztraubensäure derselben Konzentration allein zugesetzt wird, sinkt diese in 240 Minuten um 53%.

Die angeführten Tatsachen erlauben den Schluß, daß Glucose und zugesetzte Brenztraubensäure unter der Wirkung gemeinsamer Enzyme abgebaut werden. Es wird wohl im allgemeinen angenommen, daß Brenztraubensäure in der lebenden Hefe wie in dem Macerationssaft ein Durchgangsglied des Abbaues der Glucose darstellt. Unsere Ergebnisse lassen sich gut mit dieser Auffassung vereinen. Es besteht die Möglichkeit, daß die aus Glucose entstehende Brenztraubensäure zur Hauptsache aus einem anderen und reaktionsfähigeren Tautomeren besteht als die von außen zugesetzte Brenztraubensäure. Es ist daran zu erinnern, daß nach *Lohmann* und *Meyerhof* (9) die Phosphobrenztraubensäure eine Enolform darstellt, die eine gewisse optische Aktivität besitzt. Die zunächst bei der Dephosphorylierung gebildete Brenztraubensäure hat deshalb wahrscheinlich die Enolform, die vielleicht eine größere Affinität als die Ketoform zu dem Enzym des nächsten Reaktionsgliedes hat.

Die zugesetzte Brenztraubensäure liegt wohl vor allem in der Ketoform vor und diese muß unseren Ausführungen gemäß bei dem weiteren Umsatz *zuerst in die Enolform* überführt werden. Dafür spricht in der Tat auch, daß zugesetzte Brenztraubensäure langsamer oxydiert wird als Glucose, auch wenn einander entsprechende Mengen der einzelnen Substrate in parallelen Versuchen zugesetzt werden. Wir wollen an anderer Stelle weitere Belege für diese Feststellung bringen.

Zusammenfassung.

Folgende binäre Substratgemische wurden lebender Bäckerhefe dargeboten 1. Glucose + Alkohol, 2. Glucose + Brenztraubensäure, 3. Brenztraubensäure + Alkohol. Glucose verdrängt sowohl Alkohol wie Brenztraubensäure. Dies geschieht auch, wenn die Glucose-

konzentration bedeutend unter die des konkurrierenden Substrats sinkt. Brenztraubensäure verdrängt bis zu einem gewissen Grad den Alkohol. Bei dem aeroben Umsatz der Glucose ist die Menge gebildeter Kohlensäure etwas größer als die des verbrauchten Sauerstoffs. Der Unterschied ist dem gebildeten Alkohol äquivalent. Es kann daraus geschlossen werden, daß der respiratorische Quotient gleich 1 ist und daß die Extrakohlensäure einer aeroben Gärung entspricht.

Bei dem Umsatz von Glucose und Brenztraubensäure sind gewisse Enzyme gemeinsam. Die Befunde sind mit der Auffassung wohl vereinbar, daß Brenztraubensäure ein Zwischenglied des Glucoseabbaues auch in der lebenden Zelle darstellt. Zur Erklärung der Verdrängung zugesetzter Brenztraubensäure durch Glucose wird angenommen, daß die innerhalb der Zelle gebildete Brenztraubensäure vor allem in der Enolform erscheint. Die zugesetzte Brenztraubensäure liegt vor allem in der Ketoform vor. Es ist wahrscheinlich, daß die Enolform sich leichter als die Ketoform umsetzt.

Prinzipiell ähnlich wie bei Brenztraubensäure und Glucose liegen wahrscheinlich die Verhältnisse bei dem Wettbewerb in den beiden übrigen untersuchten binären Systemen.

Literatur.

1) *H. Wieland* u. *O. B. Claren*, Liebigs Ann. **492**, 182, 1932. — 2) *E. Widmark*, diese Zeitschr. **131**, 475, 1922. — 3) *C. Fromageot* u. *P. Desnuelle*, ebenda **279**, 174, 1935. — 4) *I. M. Kolthoff* u. *H. Menzel*, Die Maßanalyse, II, 2. Aufl., S. 548. — 5) *R. Willstätter* u. *G. Schudel*, Ber. deutsch. chem. Ges. **51**, 780, 1918. — 6) *M. Sörensen* u. *G. Haugaard*, diese Zeitschr. **260**, 287, 1933. — 7) *J. Runnström*, *E. Sperber* u. *W. Feller*, Naturwiss. **26**, 547, 1938. — 8) *H. Tamyia* u. *Y. Ogura*, Acta Phytochimica **9**, 123, 1937. — 9) *K. Lohmann* u. *O. Meyerhof*, diese Zeitschr. **273**, 60, 1934.

Steigerung der Wuchsstoffwirkung der Bierwürze durch Behandlung mit Alkali oder Salzsäure.

Von

Vagn Hartelius.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium in Kopenhagen.)

(Eingegangen am 11. Februar 1939.)

Während der Gehalt der Würze an Bios-Wuchsstoff durch Kochen oder Erhitzen in Autoklaven nicht verändert wird (*Nielsen* 1934), kann, wie verschiedene Arbeiten zeigen, die Wuchsstoffwirkung in einer Wuchsstofflösung durch Erwärmung mit Säure beeinflußt werden. So wies *Eastcott* (1928) nach, daß die Wuchsstoffwirkung von Tee-Extrakt auf Hefe sich durch 22stündiges Kochen mit 20% Salzsäure verdoppelt. Nach der Meinung von *Kögl* und *van Hasselt* (1936) ist diese Aktivierung darauf zurückzuführen, daß im Tee-Extrakt Meso-Inosit in Form biologisch unwirksamer Ester (vorzugsweise Phytin) vorkommt, die durch Kochen mit Salzsäure hydrolysiert und hierdurch wirksam werden. *Rippel* (1938) machte die Beobachtung, daß frischer Extrakt von Vicia faba so gut wie gar keine Wirkung auf das Hefewachstum hat, während sich diese Wirkung nach viertelstündigem Kochen des Extrakts mit 2 n Salpetersäure um mehr als das 100000fache steigert. Vielleicht ist jedoch die hier gefundene große Wirkungssteigerung zum Teil auf die von *Rippel* angewandte Methodik zurückzuführen. *Rippel* mißt nämlich das Hefewachstum mit Hilfe der p_H-Senkung, die während des Wachsens der Hefe auftritt; diese Methode kann, wie ich nachgewiesen habe (*Hartelius* 1937), Fehler von weit über 1000% veranlassen. Möglicherweise kann sich auch während des Kochens mit Salpetersäure ein Stoff bilden, der, ohne das Hefewachstum wesentlich zu beeinflussen, eine starke Wirkung auf die Säureproduktion ausübt. *Rippel* nimmt an, daß die Steigerung der Wuchsstoffwirkung bei Salpetersäurebehandlung durch Zerstörung eines „Wirkstoffes" verursacht wird, der das Wachstum der Hefe hemmt; ich halte es für wahrscheinlicher, daß die Salpetersäurebehandlung das Freiwerden von Wuchsstoffen veranlaßt.

Bei einigen Versuchen fand ich, daß die Wuchsstoffwirkung der Bierwürze bei Behandlung mit schwachem Alkali zunimmt. Da die Frage in verschiedener Hinsicht von Interesse ist, habe ich diese Wirkung näher untersucht, worüber ich hier im folgenden berichte.

Methodik.

Die Untersuchung der Wuchsstoffwirkung in den verschiedenen Würzepräparaten geschah mit der im hiesigen Laboratorium gewöhnlich ange-

wandten Methode. In 100-ccm-*Erlenmeyer*-Kolben werden Proben der Präparate pipettiert, deren Wuchsstoffwirkung untersucht werden soll. Darauf werden 50 ccm einer Nährlösung hinzupipettiert, die pro Liter 50 g Rohrzucker, 0,6 g $(NH_4)_2SO_4$, 0,7 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 1,0 g KH_2PO_4, 0,5 g NaCl, 0,4 g $CaCl_2 \cdot 6\,H_2O$ und 0,5 ccm 1%ige $FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$ enthält und die mit einer wuchsstoffarmen, ruhenden Hefe (Saccharomyces cerevisiae) geimpft ist; die Impfmenge entspricht etwa 1 mg Hefetrockensubstanz pro 50 ccm. Nach 24stündigem Wachstum bei 25° wird die Menge der Hefetrockensubstanz in den Kolben durch Abfiltrieren in Jenaer Glasfiltertiegeln 1 G 4 und Trocknen bis zu konstantem Gewicht bestimmt (*Nielsen*, 1933). Die Zahlen in den Tabellen sind Mittelwerte aus je zwei Parallelbestimmungen.

Versuchsresultate.

Beim ersten Versuch wurden 250 ccm Würze 1 Stunde mit Rückflußkühler mit 2 ccm 16 n NaOH gekocht und nach Abkühlung mit HCl neutralisiert. Zum Vergleich diente eine Portion in gleicher Weise, jedoch ohne NaOH gekochter Würze; diesem Kolben wurde Wasser in einer Menge hinzugefügt, die der Gesamtmenge von NaOH und HCl im ersten Kolben entsprach. Zur Untersuchung der Wuchsstoffwirkung der beiden Würzeproben wurden von diesen je $^1/_4$, $^1/_2$, 1 und 2 ccm pro Kolben zugesetzt (Tabelle I). Bei den beiden schwächsten Konzentrationen wurde in den Kolben, denen alkalibehandelte Würze zugesetzt war, 33% mehr Trockensubstanz erzielt als in den Kolben, denen ohne Lauge gekochte Würze zugesetzt war; bei Zusatz von 1 ccm enthielten die Kolben mit alkalibehandelter Würze nur 12% mehr Trockensubstanz, und bei Zusatz von 2 ccm ergab die alkalibehandelte Würze die geringste Ausbeute an Trockensubstanz. Dies läßt sich wohl so erklären, daß die Würze durch Alkalibehandlung zwar eine größere Wuchsstoffwirkung erhält, daß sich aber gleichzeitig gewisse Hemmungsstoffe bilden, die jedoch nur in stärkerer Konzentration eine merkbare Wirkung haben. Bei Zusatz von $^1/_4$ und $^1/_2$ ccm ist die hemmende Wirkung schwach, die wachstumsfördernde also überwiegend; hier ergab daher die alkalibehandelte Würze die größte Trockensubstanzproduktion. Bei Zusatz

Tabelle I. Hefewachstum bei Zusatz verschiedener Mengen unbehandelter und mit Natronlauge gekochter Würze.

	Hefetrockensubstanz mg
$^1/_4$ ccm unbehandelte Würze	8,5
$^1/_2$ „ „ „	11,1
1 „ „ „	17,1
2 „ „ „	27,3
$^1/_4$ ccm mit Natronlauge gekochte Würze	11,3
$^1/_2$ „ „ „ „ „	15,0
1 „ „ „ „ „	19,0
2 „ „ „ „ „	25,3
Kontrolle (ohne Zusatz)	4,3

von 1 ccm beginnt sich die hemmende Wirkung bemerkbar zu machen, so daß sie die Wuchsstoffwirkung zum Teil verdeckt; bei Zusatz von 2 ccm ist die hemmende Wirkung überwiegend.

Sodann wurde untersucht, ob das im Versuch Tabelle I bei Neutralisierung des zugesetzten Alkalis gebildete NaCl (oder besser die Na-Ionen + Cl-Ionen) einen Einfluß auf die Wuchsstoffwirkung der Würze hat (Tabelle II). Mit den im Versuch Tabelle I angewandten Würzezusätzen wurden zusammen mit der Würze 1 bis 8 mg NaCl pro 50 ccm zugesetzt. Wie aus Tabelle II ersichtlich ist, hat NaCl in diesen Mengen keine steigernde Wirkung auf das Hefewachstum, vielleicht aber in den stärksten Konzentrationen eine schwach hemmende.

Tabelle II. Hefewachstum auf Nährlösung mit 1% Würze, unter Zusatz verschiedener Mengen von Kochsalz.

Kochsalzzusatz pro Kolben mg	Hefetrockensubstanz mg	Kochsalzzusatz pro Kolben mg	Hefetrockensubstanz mg
50	15,0	2	15,2
20	15,4	1	15,7
10	15,3	0	15,8
5	14,9		

Nach diesen Feststellungen wurde die Alkalibehandlung der Würze in einem neuen Versuch näher untersucht. Hierbei wurde die Würze während verschieden langer Zeiten und bei verschiedenen Temperaturen mit NaOH behandelt, und zwar bei 6^0, 20^0 und 100^0. Der Versuch wurde mit Portionen von je 50 ccm Würze ausgeführt, denen je 3 ccm 2 n NaOH zugesetzt wurden. Die bei 6^0 behandelten Proben wurden in Eiswasser abgekühlt und kamen nach Zusatz von Natronlauge in den Kühlschrank bei 6^0; die 100^0-Proben wurden bis zum Kochen erhitzt und nach Zusatz von Natronlauge in das Wasserbad von 100^0 gebracht. Nach Neutralisierung wurden alle Proben in Meßkolben auf 200 ccm aufgefüllt und mit Zusätzen, die 1, $^1/_2$ und $^1/_4$ ccm Würze entsprechen, auf Hefe geprüft (Tabelle III). Ferner wurde ein orientierender Versuch unter Behandlung von Würze mit Salzsäure (3 ccm 2 n HCl pro 50 ccm) während 2 Stunden bei 100^0 ausgeführt; nach Abkühlung wurde mit Natronlauge neutralisiert und hierauf die Würzeprobe wie oben beschrieben behandelt und auf Hefe geprüft (Tabelle IIIa).

In Tabelle III und IIIa ist das Verhältnis der Hefetrockensubstanzmengen berechnet, das sich beim Vergleich der Kolben mit natronlauge- oder salzsäurebehandelter Würze mit den Kolben, die die gleiche Menge unbehandelter Würze erhielten, ergibt, wobei die Hefetrockensubstanz der Kolben mit unbehandelter Würze = 100 gesetzt wurde. Diese Größe, die ich mit „*F*“ bezeichnet habe, ergibt ein gutes Maß für die Steigerung der Wuchsstoffwirkung, wenn es sich, wie hier, ur um geringe Steigerungen handelt.

Tabelle III. Verschieden lange und bei verschiedener Temperatur mit Natronlauge behandelte Würze.

Behandlungsdauer	Zusatz ccm	6° Hefetrockensubstanz mg	F	20° Hefetrockensubstanz mg	F	100° Hefetrockensubstanz mg	F
5 Minuten	1	24,1	100	27,0	112	24,6	102
	1/2	14,1	103	15,4	112	16,9	123
	1/4	9,2	118	9,8	126	11,9	153
10 Minuten	1	25,9	107	27,5	114	22,9	95
	1/2	14,8	108	16,2	118	14,3	104
	1/4	9,1	117	11,5	147	9,5	122
20 Minuten	1	26,0	108	28,2	117	22,0	91
	1/2	15,1	110	17,9	130	14,8	108
	1/4	9,1	117	11,9	153	9,0	115
40 Minuten	1	25,5	106	27,3	113	23,6	98
	1/2	15,8	115	17,8	130	14,3	104
	1/4	10,2	131	12,6	162	10,2	131
2 Stunden	1	27,4	114	28,4	118	23,3	97
	1/2	16,6	121	17,6	128	15,2	111
	1/4	10,1	129	12,9	165	10,8	138
20 Stunden	1	24,4	101	26,8	111		
	1/2	16,7	122	16,7	122		
	1/4	11,5	147	11,5	147		
70 Stunden	1	21,2	88				
	1/2	14,2	104				
	1/4	10,8	138				
Unbehandelte Würze	1	24,1	100				
	1/2	13,7	100				
	1/4	7,8	100				
Kontrolle (ohne Zusatz)		2,8					

Tabelle IIIa. Bei 100° mit Salzsäure behandelte Würze.

	Zusatz ccm	Hefetrockensubstanz mg	F
Salzsäurebehandelte Würze	1	29,5	122
	1/2	18,2	133
	1/4	11,0	141
Unbehandelte Würze	1	24,1	100
	1/2	13,7	100
	1/4	7,8	100
Kontrolle (ohne Zusatz)		2,8	

Bei 6° (Tabelle III) war die Steigerung der Wuchsstoffwirkung ziemlich gering; bei länger dauernder Behandlung trat zwar eine recht kräftige Steigerung auf, gleichzeitig wurde aber auch ziemlich viel

Hemmungsstoff gebildet. Behandlung bei 20° ergab das beste Resultat, obwohl sich auch hier gewisse Mengen von Hemmungsstoffen bildeten: durch zweistündige Behandlung bei 20° wurde die Wuchsstoffwirkung um etwa 66% erhöht. Die Behandlung bei 100° ergab ein schlechtes Resultat, weil sich hier so viel Hemmungsstoff bildete, daß die Steigerung der Wuchsstoffwirkung in den meisten Fällen verdeckt wurde. Bei dem orientierenden Versuch mit Salzsäurebehandlung der Würze (Tabelle IIIa) ergab sich eine Steigerung der Wuchsstoffwirkung von ungefähr gleicher Größe wie bei Behandlung mit Natronlauge; dagegen wurden Hemmungsstoffe nur in sehr geringer Menge gebildet.

Da es hiernach schien, daß Behandlung der Würze mit Salzsäure günstigere Resultate gibt als die Behandlung mit Natronlauge, wurde in einem neuen Versuch die Salzsäurebehandlung näher untersucht. Die Behandlung geschah bei 20° und 100°. Zu 50 ccm Würze wurden 3 ccm

Tabelle IV. Verschieden lange und bei verschiedener Temperatur mit Salzsäure behandelte Würze.

Behandlungsdauer	Zusatz ccm	20° Hefetrocken-substanz mg	F	100° Hefetrocken-substanz mg	F
5 Minuten	1	17,4	101	20,9	122
	1/2	10,9	103	13,3	125
	1/4	6,1	98	7,8	126
10 Minuten	1	17,8	103	21,0	122
	1/2	11,5	108	13,9	131
	1/4	6,4	103	8,2	132
20 Minuten	1	17,9	104	22,8	133
	1/2	11,4	108	14,2	134
	1/4	6,6	106	9,0	145
40 Minuten	1	18,5	108	22,4	130
	1/2	11,7	110	15,0	141
	1/4	7,4	119	8,5	137
1 Stunde	1	18,6	108	22,4	130
	1/2	11,6	109	15,3	144
	1/4	7,2	116	9,8	158
2 Stunden	1	19,7	115	22,5	131
	1/2	12,1	114	15,5	146
	1/4	6,8	110	9,5	153
21 Stunden	1	20,3	118		
	1/2	13,5	127		
	1/4	7,9	127		
Unbehandelte Würze	1	17,2	100		
	1/2	10,6	100		
	1/4	6,2	100		
Kontrolle (ohne Zusatz)		1,8			

2 n HCl zugesetzt; nach der Behandlung wurde mit 2 n Natronlauge neutralisiert. Da es sich gezeigt hatte, daß die Lauge auch bei Zimmertemperatur eine starke Wirkung auf die Würze ausübt, wurden die Kolben vor der Neutralisierung in Eiswasser abgekühlt, um zu vermeiden, daß die Natronlauge durch eventuelle lokale Übersättigung die Würze während der Neutralisierung beeinflußt und damit das Resultat verfälscht; bei 6° ist ja der Einfluß der Natronlauge auf die Würze nur minimal. Bei 20° (Tabelle IV) war die Steigerung der Wuchsstoffwirkung auch nach langdauernder Behandlung mit HCl recht gering; bei 100° dagegen war sie stark, und zwar ebenso stark wie bei den günstigsten Versuchen mit Na OH, während die Bildung von Hemmungsstoffen, wie erwartet, nur geringfügig war, selbst nach langdauernder Behandlung. Das beste Resultat wurde bei Behandlung mit Salzsäure während 1 oder 2 Stunden bei 100° erreicht.

Der Versuch wurde wiederholt, wobei jedoch nur Salzsäurebehandlung bei 100° während 1 Stunde angewandt wurde; außerdem wurde ein Kontrollversuch angesetzt, bei dem eine Portion Würze 1 Stunde lang ohne Salzsäurezusatz auf 100° erwärmt wurde (Tabelle V). Die Salzsäurebehandlung ergab dasselbe Resultat wie beim vorigen Versuch, wohingegen das Kochen ohne Salzsäure, wie auch früher von *Nielsen* (1934) nachgewiesen, keinen Einfluß auf die Wuchsstoffwirkung der Würze hatte.

Tabelle V.

	Zusatz ccm	Hefetrockensubstanz mg
Würze, mit Salzsäure auf 100° C erhitzt	1	22,1
	1/2	13,7
	1/4	8,6
Würze, ohne Salzsäure auf 100° C erhitzt	1	19,1
	1/2	11,9
	1/4	6,9
Unbehandelte Würze	1	18,8
	1/2	11,2
	1/4	6,9
Kontrolle (ohne Zusatz)		2,0

Ein entsprechender Versuch wurde unter Verwendung von mit Preßhefe ausgeschüttelter Würze unternommen; diese stellt man her (*Nielsen* und *Hartelius* 1937), indem man 2 Stunden lang 1 Liter Würze mit 100 g Preßhefe schüttelt; durch das Ausschütteln wird die Wuchsstoffwirkung der Würze stark herabgesetzt. Wie sich zeigte (Tabelle VI), wurde die Wuchsstoffwirkung durch Salzsäurebehandlung ganz erheblich gesteigert. Es wurden zwei verschiedene salzsäurebehandelte und zwei verschiedene nichtsalzsäurebehandelte Präparate geprüft. Jedoch war es schwierig, ein genaues Maß für die Steigerung der Wuchs-

stoffwirkung zu erhalten: die Berechnung läßt sich ja hier nicht in derselben Weise wie bei gewöhnlicher Würze ausführen, weil sich hier bei Zusatz von salzsäurebehandelter oder nichtsalzsäurebehandelter Würze ein zu großer Unterschied in bezug auf die gebildete Hefetrockensubstanz ergibt. Immerhin war es möglich, ein Maß für die Wirkung der Salzsäurebehandlung zu erhalten; $^1/_4$ ccm salzsäurebehandelter Würze ergab nämlich eine größere Trockensubstanzproduktion als Zusatz von 1 ccm nichtsalzsäurebehandelter Würze; die Wuchsstoffwirkung der mit Preßhefe ausgeschüttelten Würze muß daher durch die Salzsäurebehandlung auf mehr als das Vierfache gestiegen sein.

Tabelle VI. Salzsäurebehandlung von mit Preßhefe ausgeschüttelter Würze.

	Zusatz ccm	Hefetrockensubstanz mg
Salzsäurebehandelt I	1	11,3
	$^1/_2$	8,6
	$^1/_4$	6,8
Salzsäurebehandelt II	1	11,0
	$^1/_2$	9,0
	$^1/_4$	7,1
Nichtsalzsäurebehandelt I	1	6,3
	$^1/_2$	4,2
	$^1/_4$	3,3
Nichtsalzsäurebehandelt II	1	5,6
	$^1/_2$	4,0
	$^1/_4$	3,2
Kontrolle (ohne Zusatz)		2,4

In einem weiteren Versuch wurde untersucht, wie die Wuchsstoffwirkung der mit Preßhefe ausgeschüttelten Würze durch Salzsäurebehandlung bei 100° während zunehmender Zeitdauer gesteigert wird (Tabelle VII). Schon nach 5 Minuten Behandlung war eine starke Erhöhung der Wuchsstoffwirkung eingetreten; selbst eine ganz kurz dauernde Salzsäurebehandlung hat also schon großen Einfluß. Bei längerer Behandlung steigt die Wuchsstoffwirkung weiter, so daß eine zweistündige Behandlung die besten Resultate ergab; eine noch längere Behandlung wurde nicht versucht.

Es hat sich früher gezeigt (*Nielsen* und *Hartelius*, noch nicht veröffentlichte Arbeit), daß eine starke Erhöhung der Wuchsstoffwirkung auf Hefe erzielt wird, wenn man der Hefenährlösung außer der mit Preßhefe ausgeschüttelten Würze gewisse Aminosäuren zusetzt; so erhält man eine große Wirkung durch Zusatz von 100 mg Asparagin + 100 mg Glutaminsäure + 1 mg β-Alanin pro 1 Liter Nährlösung.

Tabelle VII. Salzsäurebehandlung von mit Preßhefe ausgeschüttelter Würze während verschiedener Dauer bei 100°.

Behandlungsdauer	Zusatz ccm	Hefetrockensubstanz mg
0 Minuten (sofort wieder abgekühlt und neutralisiert)	1	5,1
	1/2	3,7
	1/4	2,6
5 Minuten	1	7,2
	1/2	5,2
	1/4	4,0
10 Minuten	1	8,0
	1/2	6,1
	1/4	4,7
30 Minuten	1	7,2
	1/2	6,3
	1/4	5,0
60 Minuten	1	7,7
	1/2	6,3
	1/4	4,9
120 Minuten	1	8,5
	1/2	7,4
	1/4	6,0
Nichtsalzsäurebehandelt I	1	4,2
	1/2	3,3
	1/4	2,5
Nichtsalzsäurebehandelt II	1	4,9
	1/2	3,1
	1/4	2,5
Kontrolle (ohne Zusatz)		1,9

Es liegt also die Möglichkeit vor, daß die durch Salzsäurebehandlung der mit Preßhefe durchgeschüttelten Würze entstehende Steigerung durch Bildung von Aminosäuren mit Wuchsstoffwirkung verursacht wird, und zwar wahrscheinlich zum Teil von den drei oben genannten Aminosäuren, die, wie sich gezeigt hat, die größte Wirkung haben. Falls diese Annahme richtig ist, würde man bei Prüfung von Würzepräparaten auf Hefe unter Verwendung einer Nährlösung, die die drei Aminosäuren in reichlicher Menge enthält, einen geringeren Unterschied zwischen salzsäurebehandelter und nichtsalzsäurebehandelter Würze finden, als bei Verwendung der gewöhnlichen Nährlösung ohne Aminosäurezusatz. Die Mengen von Asparagin, Glutaminsäure oder β-Alanin, die sich eventuell in der salzsäurebehandelten Würze bilden, würden ja nur eine geringe oder gar keine Steigerung des Hefewachstums bewirken, wenn die Nährlösung im voraus reichliche Mengen der betreffenden Aminosäuren enthält.

Beim Versuch (Tabelle VIII) ergab sich, daß in gewöhnlicher Nährlösung $^1/_4$ ccm salzsäurebehandelter Würze ebenso stark wachstumsfördernd wirkt (die gleiche Hefetrockensubstanzproduktion ergibt), wie 1 ccm nichtsalzsäurebehandelter Würze; der Wuchsstoffgehalt erwies sich also in Übereinstimmung mit dem vorigen Versuch als vervierfacht. Dagegen hatte $^1/_4$ ccm salzsäurebehandelter Würze in Nährlösung mit Aminosäuren nur die gleiche wachstumsfördernde Wirkung wie $^1/_2$ ccm nicht salzsäurebehandelter Würze: die Wuchsstoffwirkung ergab sich also hier als nur doppelt so groß.

Tabelle VIII. Salzsäurebehandelte und nichtsalzsäurebehandelte mit Preßhefe ausgeschüttelte Würze.

	Zusatz ccm	Gewöhnliche Nährlösung mg Hefetrockensubstanz	Nährlösung mit Zusatz von 100 mg Asparagin, 100 mg Glutaminsäure und 1 mg β-Alanin pro Liter mg Hefetrockensubstanz
Nichtsalzsäurebehandelte Würze	1	7,6	14,1
	1/2	5,8	10,7
	1/4	3,8	8,4
Salzsäurebehandelte Würze	1	11,7	16,3
	1/2	9,9	13,8
	1/4	7,9	11,1
Kontrolle (ohne Zusatz)		2,2	4,1

Da sich also wirklich nachweisen läßt, daß der Unterschied in der wachstumsfördernden Wirkung salzsäurebehandelter und nichtsalzsäurebehandelter Würze geringer ist, wenn man der Nährlösung außerdem die drei genannten Aminosäuren zusetzt, so kann man wohl mit Recht annehmen, daß die Steigerung der Wuchsstoffwirkung der Würze bei Salzsäurebehandlung auf Freiwerden der betreffenden Aminosäuren durch Hydrolysierung von Peptiden zurückzuführen ist.

Die tatsächliche Vermehrung der Aminosäuremenge bei Salzsäurebehandlung wurde durch direkte Bestimmung der Aminosäurestickstoffmengen mittels Formoltitration (Tabelle IX) nachgewiesen. Der Gehalt der Würze an Formolstickstoff steigt bei Salzsäurebehandlung um etwa 33%.

Ein völliger Ausgleich des als Folge der Salzsäurebehandlung auftretenden Effekts durch Zusatz der drei Aminosäuren ist nicht zu erwarten, erstens weil außer Asparagin, Glutaminsäure und β-Alanin sicher auch noch andere Aminosäuren mit Wuchsstoffwirkung freiwerden, die eine zusätzliche Wirkung ausüben, und zweitens weil ein weiterer Zuschuß mindestens von Asparagin und Glutaminsäure eine kleine Wirkungssteigerung verursacht, selbst bei Zusatz der genannten Aminosäuremengen.

Tabelle IX. Gesamtstickstoff und Formolstickstoff in 25 ccm salzsäurebehandelter und nichtsalzsäurebehandelter, mit Preßhefe ausgeschüttelter Würze.

	Gesamtstickstoff mg	Formolstickstoff mg	Formolstickstoff in % des Gesamtstickstoffs
Salzsäurebehandelt	14,0	4,6	32,9
Nichtsalzsäurebehandelt	14,0	3,4	24,3

Zum Schluß möchte ich in diesem Zusammenhang noch erwähnen, daß ich versucht habe, den gleichen Effekt wie bei Salzsäurebehandlung durch Behandlung von mit Preßhefe ausgeschüttelter Würze mit peptidspaltenden Enzymen, Trypsin und Erepsin, zu erzielen. Diese Versuche sind jedoch mißlungen, und zwar vielleicht, weil es mit Rücksicht auf die Enzyme nötig ist, den p_H der Würze ziemlich stark in alkalischer Richtung zu verschieben; durch diesen Zusatz von NaOH zur Würze findet möglicherweise eine Hydrolysierung der Peptide statt, so daß die später auftretende Wirkung durch die enzymatische Hydrolyse verdeckt wird.

Zusammenfassung und Besprechung der Versuchsresultate.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Wuchsstoffwirkung der Würze durch Behandlung mit schwacher NaOH oder besser mit schwacher Salzsäure gesteigert wird. Gewöhnliche Bierwürze ergibt eine recht geringe Steigerung der Wuchsstoffwirkung bis zu 66%, während mit Preßhefe ausgeschüttelte Würze eine starke Steigerung der Wuchsstoffwirkung bis auf mehr als das Vierfache erreicht.

Wie in der Einleitung erwähnt, könnte man möglicherweise annehmen, daß die Wirkungssteigerung bei Salzsäurebehandlung durch Hydrolyse verschiedener Meso-Inositester verursacht wird (*Eastcott* 1928, *Kögl* und *van Hasselt* 1936); vermutlich würde man jedoch bei der recht milden Behandlung, der die Lösungen in meinen Versuchen ausgesetzt waren, Freiwerden von Meso-Inosit nur in recht geringem Maße erreichen. Selbst eine ganz kurz dauernde Behandlung ergab ja bei meinen Versuchen eine starke Steigerung der Wuchsstoffwirkung (Tabelle VII). Eher ist wohl die Steigerung der Wuchsstoffwirkung der Hydrolyse gewisser Peptide zuzuschreiben, wobei Aminosäuren frei werden; gewisse Aminosäuren haben ja Wuchsstoffwirkung, während diese für Peptide nicht nachgewiesen ist. In zwei Fällen (*Nielsen* und *Hartelius* 1938 b) wurde für β-Alanylglycin und für Glycylasparaginsäure nachgewiesen, daß durch Hydrolysierung der Dipeptide eine Wuchsstoffwirkung erzielt wurde, die genau der Menge von β-Alanin oder Asparaginsäure entspricht, die das Dipeptid enthält (Glycin hat keine Wuchsstoffwirkung), während das Dipeptid selbst keine Wuchsstoffwirkung ausübt.

Es ist also möglich, durch Hydrolysierung von Peptiden Aminosäuren mit Wuchsstoffwirkung freizumachen. Aus der Zunahme des Gehalts an Formolstickstoff um 33% in der mit Preßhefe ausgeschüttelten Würze nach Salzsäurebehandlung geht direkt hervor, daß durch diese tatsächlich ein Freiwerden von Aminosäuren stattfindet.

Die Annahme, daß die Steigerung der Wuchsstoffwirkung bei Salzsäurebehandlung dem Freiwerden von Aminosäuren zuzuschreiben

ist, wird gestützt durch die verschiedene Wirkung der Salzsäure auf die beiden verschiedenen zur Untersuchung gelangten Würzepräparate. Der Effekt nach Behandlung mit Salzsäure war bei gewöhnlicher Würze recht bescheiden, dagegen bei mit Preßhefe ausgeschüttelter Würze groß. Dies stimmt mit der Tatsache überein, daß gewöhnliche unbehandelte Würze reich an Aminosäuren mit Wuchsstoffwirkung ist, während mit Preßhefe ausgeschüttelte Würze äußerst arm an wirksamen Aminosäuren ist. Letzteres geht daraus hervor, daß bei Zusatz wirksamer Aminosäuren zu unbehandelter Würze nur eine geringe Steigerung der Wuchsstoffwirkung stattfindet (*Nielsen* und *Hartelius* 1938a), während der gleiche Zusatz zu mit Preßhefe ausgeschüttelter Würze eine recht starke Steigerung der Wuchsstoffwirkung ergibt (*Nielsen* und *Hartelius*, noch nicht veröffentliche Mitteilung).

Die Annahme wird weiterhin durch die Tatsache bestätigt, daß die durch Salzsäurebehandlung der Würze erzielte Steigerung der Wuchsstoffwirkung teilweise durch Zusatz wirksamer Aminosäuren ausgeglichen werden kann.

Literatur.

E. V. Eastcott, J. Phys. Chem. **32**, 1094, 1928. — *V. Hartelius*, Planta **27**, 287, 1937; C. r. Lab. Carlsberg, Sér. physiol. **22**, 89, 1937. — *F. Kögl* u. *W. van Hasselt*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **242**, 74, 1936. — *N. Nielsen*, C. r. Lab. Carlsberg **19**, Nr. 16, 1933. — *Derselbe*, ebenda **20**, Nr. 1, 1934. — *N. Nielsen* u. *V. Hartelius*, ebenda, Sér. physiol. **22**, 1, 1937. — *Dieselben*, diese Zeitschr. **295**, 211, 1938; C. r. Lab. Carlsberg, Sér. physiol. **22**, 249, 1938. — *Dieselben*, diese Zeitschr. **296**, 359, 1938; C. r. Lab. Carlsberg, Sér. physiol. **22**, 271, 1938. — *K. Rippel*, Habilitationsschrift, München 1938.

Versuche zur Fettbelastungsprobe beim Diabetiker.

Von

Tatuo Hatakeyama, Kyutaro Takahasi, Yasuo Tutumi und Kaoru Yamazaki.

(Aus der medizinischen Klinik der Tohoku Universität zu Sendai.)

(Eingegangen am 2. Januar 1939.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Über die alimentäre Hyperlipämie liegen bereits Angaben zahlreicher Autoren vor. *Bürger* und *Habs* (1), *Wendt* (2), *Man* und *Gildea* (3), *Curtis*, *Sheldon* und *Eckstein* (4), *Gneiting* (5), *Wilson* und *Hanner* (6), *Tajima* (7), *Raab* (8) u. a. teilten mit, daß beim Normalen die Zunahme des Blutfettgehalts 3 bis 4 Stunden nach der Belastung mit Fett das Maximum erreicht. Die Kurve der alimentären Hyperlipämie haben indessen nur wenige Autoren erforscht. *Hartmann* (9), *Arnoldi* und *Collazo* (10) meinen, daß es hinsichtlich des Verhaltens bei Fettbelastung fast keinen Unterschied zwischen dem Gesunden und dem Diabetiker gibt. Aber *Hejda* (11), *Leites*, *Sorkin* und *Agaletzkaja* (12), *Cantoni*, *Oscar*, *Fossati* (13) u. a. gaben an, daß beim Diabetiker der Gehalt an Cholesterin und Aceton im Blute bei weitem höher ist als beim Gesunden und der Rückgang zum Ausgangswert langsamer erfolgt.

In welcher Beziehung der Kohlenhydrat- und der Fettstoffwechsel beim Diabetiker stehen, wenn viel Fett eingenommen wird, ist noch weitgehend unaufgeklärt. In der vorliegenden Arbeit wird die Kurve der alimentären Hyperlipämie beim Diabetiker nach Fettbelastung und der Einfluß der Einführung des Fettes auf den Blutzucker- und Blutacetongehalt sowie auf die Glykosurie untersucht.

Methode.

Am Tage vor dem Versuch wurde fettreiche Nahrung vermieden. Zuerst wurde das Blut am Morgen im nüchternen Zustand entnommen. Im Versuch mit einmaliger Belastung bekam dann die Versuchsperson beim Frühstück etwa 1,0 g Butter pro 1 kg Körpergewicht, gelöst in 200 ccm Milch. Weitere Blutproben wurden nach 3, 6, 9 und 24 Stunden entnommen. Im Versuch mit doppelter Belastung erhielt die Versuchsperson beim Frühstück und Mittagessen Butter in gleicher Menge wie bei der einmaligen Belastung. Blutproben wurden 3, 6, 9 und 24 Stunden nach der ersten Verabreichung entnommen.

Der Plasmafettgehalt wurde nach der Methode von *Katsura*, *Hatakeyama* und *Tajima* (14), der Blutzucker nach der *Hagedorn* und *Jensen*schen (15) und der Butacetongehalt nach der *Engfeldt*schen (16) Methode bestimmt.

Versuchsergebnisse.

1. Die alimentäre Hyperlipämiekurve beim Nichtdiabetiker.

An fünf Nichtdiabetikern haben wir Versuche mit einmaliger Fettbelastung angestellt und die Veränderungen der Gesamtmenge des Plasmafettes bestimmt. Diese Versuche ergaben, daß die Gesamtlipoide des Plasmas größtenteils 3 Stunden nach der Einführung des Fettes das Maximum erreichten, wobei die Zunahme 8,4 bis 38,3%, durchschnittlich 26,0%, betrug und nach 6 Stunden zum Ausgangswert zurückkehrte. Bei einzelnen trat 6 bis 9 Stunden nach der Einführung

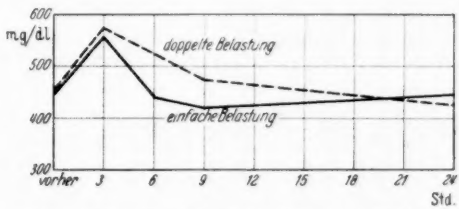


Abb. 1. Alimentäre Hyperlipämiekurve beim Nichtdiabetiker.

eine leichte Hypolipämie, dann eine allmähliche Zunahme und endlich nach 24 Stunden Zurückgehen zum Ausgangswert ein. Die Versuche mit doppelter Fettbelastung an fünf Nichtdiabetikern ergaben, daß in allen Fällen die Gesamtlipoide des Plasmas 3 Stunden nach der Verabreichung das Maximum erreichten, wobei die Zunahme 20,8 bis 33,9%, durchschnittlich 26,8%, betrug, und daß sie größtenteils in der 6. Stunde nach der Einführung im Vergleich mit denen in der 3. Stunde nicht erhöht, sondern ein wenig erniedrigt waren und nach 9 Stunden zum Ausgangswert zurückgingen. Wir haben auf Grund der Durchschnittswerte die alimentäre Hyperlipämiekurve aufgezeichnet (Abb. 1) und festgestellt, daß die Kurve der alimentären Hyperlipämie beim Nichtdiabetiker sowohl bei einmaliger Belastung als auch bei doppelter Belastung 3 Stunden nach der Einführung das Maximum erreicht, dann allmählich sinkt und bei einmaliger Belastung nach 6 Stunden, bei doppelter Belastung nach 9 Stunden beinahe zum Ausgangswert zurückkehrt. Diese Ergebnisse decken sich mit den Angaben von *Man* und *Gildea* (3) (Abb. 1).

2. Die alimentäre Hyperlipämiekurve beim Diabetiker.

Im ganzen haben wir 19 Versuche mit einmaliger Fettbelastung an 13 Diabetikern und 31 Versuche mit doppelter Belastung an 21 Fällen angestellt. Die Resultate der Versuche werden in den Tabellen I und II gezeigt.

Tabelle I. Ergebnisse bei einmaliger Fettbelastungsprobe an Diabetikern.

Fall	Datum 1936	Geschlecht	Alter Jahre	Abweichung vom Idealgewicht kg	Trübung des Plasmas vor	Trübung des Plasmas nach	Aufgenommene Buttermenge g	Gesamtlipoide mg/100 ccm vor	Gesamtlipoide mg/100 ccm 3 Std.	Gesamtlipoide mg/100 ccm 6 Std.	Gesamtlipoide mg/100 ccm 9 Std.	Gesamtlipoide mg/100 ccm 24 Std.	Blutzucker nüchtern mg/100 ccm	Blutaceton mg/100 ccm vor	Blutaceton mg/100 ccm 9 Std.	Glykosurie %	Glykosurie Tagesmenge
1	8. III.	♂	18	− 13,0	−	−	60	416	417	506 (+21,6 %)	392	387	130				8
	14. III.				−	±	60	348	526 (+51,2 %)	508 (+46,1 %)	416		168				4
	18. III.				−	+	60	413	550	688 (+61,6 %)	562						10
	25. IV.			− 11,0	−	+	60	355	470	516 (+45,4 %)	410		116				Spur
41	12. III.	♂	47	− 3,0	+	++	60	737	1160 (+57,5 %)	1340 (+81,9 %)	1308		220				10
18	9. III.	♂	23	+ 6,0	−	+	60	645	825	1000 (+55,0 %)	620	608	102			—	
47	20. VI.	♀	47	− 5,5	−	+	40	394		470 (+19,3 %)	654 (+66,0 %)		291	2,61	2,97	8,0	176
42	17. VIII.	♂	26	− 3,3	−	±	50	681	805	862 (+26,7 %)	697		90				Spur
	22. IX.			− 3,9	−	±	50	759	904	911 (+20,1 %)	884			1,49	2,25	0,4	
	4. XII.			− 3,9	−	±	40	716	806	881 (+23,0 %)			86	1,49	2,15	0,3	3
2	1. X.	♂	59	− 9,0	−	−	50	272	317	344 (+26,5 %)	377		121	1,89	2,05	0,3	5
5	18. XII.	♂	27	− 6,0	−	+	60	457	609	550 (+20,3 %)	442		120	1,43	1,84	—	
6	26. XI.	♂	15	− 13,8	−	−	40	440	425	559 (+27,0 %)			296	2,20	2,05	4,2	76
	16. XII.				−	−	40	438	481	426	430		129	1,18	1,64	—	
25	15. XII.	♂	63	+ 11.0	−	−	60	439	471	528 (+20,3 %)			130	1,95	2,82	0,4	
3	15. X.	♀	45	− 11,1	−	−	60	359	357	373 (+ 3,9 %)	290		139	1,84	1,99	3,0	35
23	7. V.	♂	59	− 16,3	−	−	50	375	417	417 (+10,9 %)	345		225			2,0	50
8	29. XII.	♂	22	− 19,9	−	−	50	365	382	406 (+11,2 %)	257		84	1,95	3,02	0,6	3
24	14. X.	♂	63	− 11,6	−	−	50	550	510	526	577		120	1,33	1,89	0,4	6

Fall	Datum	Geschlecht	Alter in Jahren	Abweichung vom Idealgewicht kg	Trübung des Plasmas vor	Trübung des Plasmas nach	Aufgenommene Buttermenge g	Gesamtlipoide mg/100 ccm vor	Gesamtlipoide mg/100 ccm 3 Std.	Gesamtlipoide mg/100 ccm 6 Std.	Gesamtlipoide mg/100 ccm 9 Std.	Gesamtlipoide mg/100 ccm 24 Std.	Blutzucker nüchtern mg/100 ccm	Blutaceton mg/100 ccm vor	Blutaceton mg/100 ccm 9 Std.	Glykosurie %	Glykosurie Tagesmenge g
22	13. III. 1936	♂	55	−15,0	−	−	120	392	677	710 (+ 81,2 %)	513 (+ 30,9 %)	483	235	3,33	3,79	6,1	166
	2. VI. 1936			−15,0	−	+	80	472		644	700 (+ 48,4 %)		146	1,48	4,96	0,2	5
1	12. II. 1936	♂	18	−16,0	−	++	120	440	730 (+65,9 %)		1208 (+174,0 %)	495	310	4,04	4,86	6,0	134
	2. III. 1936				−	+	100	332			747 (+125,0 %)		134	3,69	4,10	0,6	5
41	4. II. 1936	♂	47	− 3,9	±	++	100	732			1120 (+ 53,0 %)		177	2,04	2,30		12
	13. II. 1936				+	+++	120	1202			1780 (+ 48,2 %)	919	181	2,30	2,70		41
	12. VI. 1936			− 3,9	−	++	80	827		929	1010 (+ 22,1 %)		119				1
18	16. II. 1936	♂	23	+ 6,1	−	++	120	679	814	1207 (+ 77,8 %)	778	628	94	2,15	2,66		1
19	3. II. 1936	♀	57	− 7,2	−	++	100	501			750 (+ 49,7 %)		226	2,00	3,19		129
	19. II. 1936				−	++	120	526	736	1166 (+121,0 %)	1248 (+137,0 %)	488	172	2,30	2,41		44
43	1. II. 1936	♂	25	− 9,1	−	−	100	455		690 (+ 51,7 %)	430		155	1,95	3,07		Spur
	28. II. 1936				−	−	120	376	668 (+77,6 %)	538	530 (+ 41,0 %)	457	160				6
	11. IV. 1936				−	−	80	450		675 (+ 50,0 %)	469			2,00	2,66	0,4	4
40	26. I. 1936	♂	28	+ 4,1	−	+	100	469			804 (+ 71,5 %)		106	1,64	3,02		2
	9. II. 1936				−	−	120	439			540 (+ 25,3 %)			0,97	3,54		Spur
20	15. I. 1936	♂	56	+ 3,1	−	+	100	722		1100 (+ 52,3 %)	740		164	1,94	2,86		4
	23. I. 1936			+ 2,8	−	+	100	635			790 (+ 24,4 %)			1,54	3,03		9
	25. II. 1936				−	+	120	719	822	1037	1090 (+ 51,6 %)	611	113	2,31	3,00		6
16	30. I. 1936	♂	21	−13,2	−	±	100	552			662 (+ 20,0 %)		345	5,17	14,10		115
47	23. VI. 1936	♀	47	− 5,5	−	±	80	380		415	457 (+ 20,2 %)		250	2,46	3,89	7,0	140
33	27. I. 1937	♂	45	+16,0	±	++	100	596		1094 (+ 83,5 %)	1132 (+ 90,0 %)		100	1,80	2,20	0,4	
31	2. VII. 1936	♀	37	−12,9	−	−	80	535		603	651 (+ 21,7 %)		185	2,46	3,19	5,8	
46	10. X. 1936	♂	46	− 8,5	−	±	80	415		520	679 (+ 63,6 %)			2,61	2,87	6,0	
8	9. I. 1937	♂	23	−23,1	−	−	100	313		500 (+ 60,2 %)	397 (+ 27,2 %)		80	1,69	2,00	0,6	5
13	27. II. 1937	♂	33	+ 8,5	−	−	100	430		577	566 (+ 31,6 %)		90	1,28	1,43	0,4	
44	11. I. 1936	♂	36	−11,6	−	−	100	416			452 (+ 8,6 %)		93	1,28	2,73		Spur
5	8. I. 1937	♂	27	− 6,3	−	±	100	535		506	579 (+ 8,2 %)		96	1,38	1,74		„
45	3. VII. 1936	♀	53	+ 6,0	−	−	80	537		461	523		120	2,15	2,92	0,7	
17	9. II. 1936	♂	50	−15,6	−	−	120	448			493 (+ 10,0 %)		170	3,38	4,86		134
21	10. III. 1936	♂	51	− 4,8	−	−	70	408			445 (+ 9,1 %)		97	1,99	2,46		2
9	13. II. 1937	♂	33	0	−	−	100	462		478	524 (+ 13,4 %)		82	1,54	1,43		Spur

Der Fall 1 war ein schwerer Diabetiker, bei dem Blutzucker und Blutacetongehalt sehr erhöht und starke Glykosurie vorhanden war. In 4 Versuchen mit einmaliger Einführung wurde stets nach 6 Stunden eine Zunahme von 21,6 bis 61,6% und in Versuchen mit der Doppelbelastung nach 9 Stunden eine Zunahme von 125,0 bis 174,0% beobachtet, und das Plasma zeigte eine makroskopisch erkennbare milchige Trübung. Je nachdem die allgemeinen Zustände des Diabetes durch die Behandlung sich verbesserten, verminderte sich allmählich das Ausmaß der Steigerung der alimentären Hyperlipämiekurve, wie Abb. 2 zeigt.

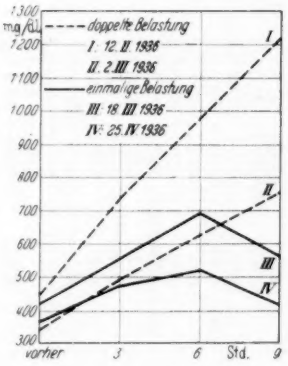


Abb. 2. Alimentäre Hyperlipämiekurve, Fall 2.

Die Fälle 22 und 19 waren schwere Diabetiker, bei denen Blutzucker und Blutacetongehalt stark erhöht und Glykosurie vorhanden war, und die sich leichter Beschränkung der Kohlenhydrate unterzogen. Durch Anwendung der Doppelfettbelastung wurde eine ausgeprägte Hyperlipämie hervorgerufen und fast dieselben Ergebnisse wie bei dem Fall 1 gewonnen. Auch die Fälle 31, 46 und 47 waren schwere Diabetiker, deren Blutzucker und Blutacetongehalt einen hohen Wert zeigten. In Versuchen mit einmaliger sowie doppelter Einführung trat eine leichte Hyperlipämie ein. Der Fall 41 war ein Phthisiker, bei dem die Glykosurie durch lange Zufuhr von reichlich Fett hervorgerufen wurde. Blutzucker, Blutacetongehalt und Glykosurie waren erhöht. Der Plasmafettgehalt während der Hungerzeit zeigte stets einen sehr hohen Wert. Sowohl bei einmaliger als auch bei Doppelbelastung trat alimentäre Hyperlipämie ein, welche länger als beim Nichtdiabetiker dauerte, und das Plasma zeigte eine deutliche milchige Trübung. Der Fall 42 war ebenfalls ein Phthisiker, bei dem durch lange Zufuhr von reichlichem Fett Glykosurie hervorgerufen wurde. Der Plasmafettgehalt während der Hungerzeit zeigte stets einen hohen Wert. In 3 Versuchen mit einmaliger Fettbelastung wurde stets in der 6. Stunde eine Zunahme von 20,1 bis 26,7% beobachtet. Der Fall 17 zeigte indessen, obgleich es sich um einen schweren Diabetiker handelte, bei dem Blutzucker, Blutacetongehalt und Glykosurie erhöht waren, durch die Doppelbelastung mit Fett keine erhebliche Zunahme des Plasmafettgehalts. Der Fall 3 von Basedowscher Krankheit und der Fall 8 von renalem Diabetes mit Lungeninfiltrat ließen bei der Fettbelastungsprobe keine auffallenden Veränderungen beobachten. Bei Fall 16 handelte es sich um einen äußerst schweren Diabetiker mit Acidosis. Bei zweimaliger Fett-

belastung zeigte sich nur eine leichte Verzögerung der alimentären Hyperlipämiekurve und nach einigen Tagen erfolgte diabetisches Präcoma.

Aus dem Obengesagten geht hervor, daß die durch die Fettbelastung hervorgerufene hochgradige alimentäre Hyperlipämie beim Diabetiker wohl nicht ganz parallel mit den pathologischen Zuständen geht, daß aber beim Diabetiker häufig bei weitem höhergradige alimentäre Hyperlipämie als beim Nichtdiabetiker eintritt.

Bei der alimentären Hyperlipämie haben wir eine Zunahme, die 3 oder 6 Stunden nach der Einführung des Fettes mehr als 50% betrug, als abnorme Steigerung bezeichnet. Zunahmen, die bei einmaliger Belastung nach 6 Stunden und bei der Doppelbelastung 9 Stunden nach der ersten Einführung noch über 20% betrugen, bezeichnen wir als abnorme Verzögerung der alimentären Hyperlipämiekurve. 50 Versuche mit der Fettbelastungsprobe ergaben, wie man aus Tabelle III ersieht, daß in 39 Versuchen eine abnorme Steigerung oder Verzögerung und in 11 Versuchen keine solche beobachtet wurde.

Tabelle III. Ergebnisse der Fettbelastungsprobe bei Diabetikern.

Einmalige Belastung			Doppelte Belastung		
Anzahl der Fälle (Versuche)	abnorme Steigerung	Fälle (Versuche)	Anzahl der Fälle (Versuche)	abnorme Steigerung	Fälle (Versuche)
13 (19)	über 50% nach 3 Std.	2 (2)	21 (31)	über 50% nach 6 Std.	8 (10)
	über 20% nach 6 Std.	9 (14)			
				über 20% nach 9 Std.	14 (21)
Versuche: 50				abnorme Veränderung	39
				ohne abnorme Veränderung	11

Durch unsere Versuche ist also nachgewiesen, daß beim Diabetiker eine abnorme Steigerung oder Verzögerung der alimentären Hyperlipämie viel häufiger als beim Nichtdiabetiker vorkommt, was mit den Versuchsresultaten von *Hejda* (11) und *Leites* (12) übereinstimmt. Derartige abnorme Veränderungen sind am häufigsten zu beobachten bei Diabetikern, die lange Zeit viel Fett einnahmen, dann bei Diabetikern mit erhöhtem Blutacetongehalt, auch bei gutgenährten Diabetikern treten sie leicht in Erscheinung. Ferner haben wir festgestellt, daß die alimentäre Hyperlipämie parallel mit dem Grade der Störung des Kohlenhydratstoffwechsels geht und mit der Besserung derselben normal wird.

3. Die Veränderungen der Plasmafettbestandteile beim Diabetiker durch die Fettbelastung.

An Diabetikern haben wir Versuche mit zweimaliger Fettbelastung durchgeführt und an Blutproben, die in nüchternem Zustand 3, 6, 9 und 24 Stunden nach der Fettbelastung entnommen wurden, die Kurve jedes Plasmafettbestandteils ermittelt (Abb. 3 und 4). Abb. 3 zeigt das Resultat des Falles 18, bei dem unter den Plasmafettbestandteilen zuerst das Neutralfett zunahm und 6 Stunden nach der Einführung das Maximum erreichte, wobei das Plasma eine milchige Trübung zeigte. Etwas später als das Neutralfett nahmen Phosphatide, Cholesterinester und freies Cholesterin nacheinander zu. 9 Stunden nach der Belastung nahm das Neutralfett erheblich ab, und zugleich schwand die milchige Trübung des Plasmas. Abb. 4 zeigt den Fall 19, bei dem zuerst das Neutralfett rasch zunahm und das Plasma sich dadurch milchig trübte. Dann stiegen Phosphatide und Cholesterinester, sie erreichten 9 Stunden nach der Belastung das Maximum und fielen hernach allmählich, um nach 24 Stunden beinahe zum Ausgangswert zurückzukehren.

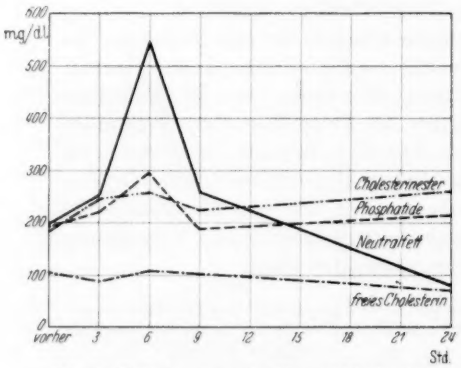


Abb. 3. Veränderungen der Plasmafettbestandteile durch die Fettbelastung, Fall 18.

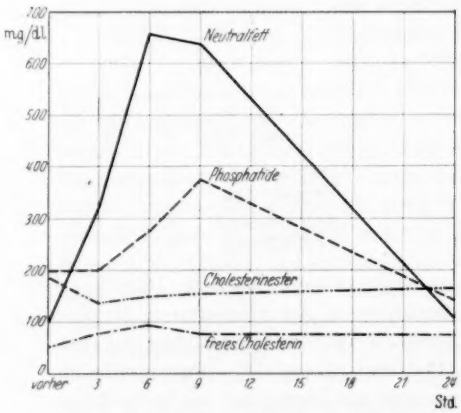


Abb. 4. Veränderungen der Plasmafettbestandteile durch die Fettbelastung, Fall 19.

Wie oben erwähnt, zeigt das Neutralfett bei der alimentären Hyperlipämie die bedeutendste Veränderung. Wenn der Gesamtgehalt an Plasmafett zunimmt, so nimmt zuerst das Neutralfett rasch und erheblich zu, wodurch das Plasma eine milchige Trübung bekommt. Nimmt der Gesamtgehalt an Plasmafett ab, so zeigt ebenfalls das Neutralfett zuerst eine Abnahme. Phosphatide und

Cholesterinester verändern sich etwas später als das Neutralfett, und zwar in geringem Maße. Das freie Cholesterin ist nach der Fettbelastung nur ein wenig erhöht, und seine Veränderung ist im Vergleich mit den drei oben genannten Bestandteilen des Plasmafettes am geringsten.

4. Die Einflüsse der Fettbelastung auf Blutzucker, Glykosurie, Plasmafett- und Blutacetongehalt beim Diabetiker.

Über die Einflüsse der Fettzufuhr auf den Blutzucker liegen Mitteilungen zahlreicher Autoren vor. Nach *Stolte* (17) ruft die Zufuhr von reichlichem Fett eine Verschlimmerung der Störung des Kohlenhydratstoffwechsels hervor. *Hirsch-Kauffmann* und *Knauer* (18) stellten fest, daß auch beim Nichtdiabetiker der Blutzucker 1 Stunde nach der Fettbelastung erheblich zunimmt.

An Diabetikern haben wir Versuche mit einmaliger Belastung mit ungefähr 1,0 g Butter pro 1 kg Körpergewicht durchgeführt und 2 Stunden nach derselben den Blutzucker bestimmt. Wie man aus Tabelle IV ersieht, ergaben 10 Versuche an neun leichten und schweren Diabetikern, bei denen Plasmafett-, Blutacetongehalt und Glykosurie niedrige oder hohe Werte zeigten, daß sich die Blutzuckermenge kaum veränderte.

Tabelle IV. Einfluß der Fettbelastung auf die Blutzuckerkurve.

Fall	Datum 1936	Geschlecht	Alter Jahre	Abweichung vom Idealgewicht kg	Blutzucker mg 100 ccm vor	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	Gesamtlipide vor mg 100 ccm	Blutaceton vor mg 100 ccm	Glykosurie Tagesmenge g
40	26. I.	♂	27	+ 4,1	88	85	92	94	92	467	1,64	—
43	1. II.	♂	25	− 9,1	141	135	127	119	108	455	1,95	—
41	4. II.	♂	47	− 3,9	177	164	142	135	128	732	2,04	12,3
44	11. I.	♂	36	− 11,6	93	95	94	94	93	416	1,28	—
20	15. I.	♂	56	+ 3,1	186	193	189	183	172	722	1,94	4,0
	23. I.			+ 2,8	154	166	164	154	151	635	1,54	7,2
19	3. II.	♀	57	− 7,4	226	231	231	222	202	501	2,00	129,2
1	2. III.	♂	18	− 14,0	134	154	148	137	134	332	3,69	—
16	30. I.	♂	21	− 13,2	345	359	355	347	335	552	5,17	115,2
48	25. II.	♂	39	+ 4,5	94	98	101	97	95			—

In anderen Versuchen haben wir Diabetikern 3 Tage lang gleiche Nahrung gegeben und sie am 2. Tage beim Frühstück und Mittagessen mit 50 bis 60 g Butter belastet, worauf am 3. Tage Blutzucker, Plasmafett-, Blutaceton- und Harnzucker bestimmt wurden. Wie aus Tabelle V ersichtlich ist, ergaben die Versuche, daß größtenteils am 3. Tage eine ausgeprägte Erhöhung des Blutzuckers und eine längere Dauer der Hyperglykämie im Vergleich mit den beiden vorhergehenden Tagen

Tabelle V. Einfluß der Fettbelastung auf Blutzucker, Plasmafett-, Blutacetongehalt und Glykosurie am folgenden Tage.

Fall	Geschlecht	Alter Jahre	Datum 1936	Diät Eiweiß	Diät Fett	Diät Kohlenhydrat	Blutzucker mg/100 ccm vor	Blutzucker 30 Min.	Blutzucker 60 Min.	Blutzucker 90 Min.	Blutzucker 120 Min.	Gesamtlipoide mg/100 ccm vor	Gesamtlipoide 9 Std.	Blutaceton mg/100 ccm vor	Blutaceton 9 Std.	Glykosurie Tagesmenge g
17	♂	50	8. II.	83	50	138	166	266	269	272	271					4,8
			9. II.	84	151	139	170	268	334	280	279	448	493	3,38	4,86	134,0
			10. II.	83	50	138	177	265	308	361	362					116,0
40	♂	27	8. II.	100	52	450	90	120	119	108	91	453				–
			9. II.	100	153	450	91	125	130	124	101	439	510	0,97	3,54	+
			10. II.	100	52	450	90	141	136	126	119					1,5
1	♂	18	11. II.	69	15	457	307	438	494	513	496	446				134,2
			12. II.	71	116	440	310	448	510	540	430	440	1190	4,04	6,76	394,0
			13. II.	68	20	450	300	461	511	556	568	495				390,4
41	♂	47	12. II.	110	86	349	173	277	362	369	345	732				35,2
			13. II.	115	187	340	181	358	339	332	312	1202	1780	2,30	2,70	40,8
			14. II.	110	85	340	179	346	367	334	315	919				43,0
18	♂	23	15. II.	81	32	465	105	190	180	130	128	576		2,00		1,3
			16. II.	100	138	456	94	185	171	132	122	679	778	2,15	2,66	1,2
			17. II.	84	38	464	102	173	135	118	112	628		2,50		1,6
19	♀	57	18. II.	49	42	200	168	197	224	253	251	516		2,15		14,4
			19. II.	51	142	200	172	275	259	222	214	526	1248	2,30	2,41	43,4
			20. II.	51	40	200	208	341	391	377	341	488		1,90		64,0
20	♂	56	24. II.	99	141	200	115	167	167	158	126	645		2,45		5,4
			25. II.	99	260	200	113	189	176	158	121	719	1090	2,31	3,00	5,9
			26. II.	99	140	200	120	187	200	187	170	611		2,61		9,1
43	♂	25	27. II.	166	180	100	155	174	169	159	148	405		2,25		–
			28. II.	164	288	100	160	151	145	148	168	376	529	2,00	2,66	6,0
			29. II.	162	187	100	168	169	162	161	159	455		2,71		4,6
21	♂	51	9. III.	70	51	200	103	156	129	126	125	357		1,90		–
			10. III.	70	111	200	97	166	155	125	118	408	445	1,99	2,46	+
			11. III.	70	51	200	92	162	186	166	131					2,2
22	♂	55	12. III.	60	51	200	230	365	416	432	443	511		3,63		166,5
			13. III.	60	130	200	235	274	366	401	429	392	513	3,33	3,79	168,0
			14. III.	60	51	200	226	361	422	440	448	483		3,73		160,0

eintraten, und daß auch die Glykosurie größtenteils am 3. Tage erheblich zunahm. Der Plasmafettgehalt während der Hungerzeit des 3. Tages zeigte bei den Fällen 1, 41, 18 und 43 einen höheren Wert als der in derselben Zeit der beiden vorhergehenden Tage. Aus diesen Befunden ergibt sich, daß der Rückgang der alimentären Hyperlipämiekurve zum Ausgangswert verzögert war. Wie wir ferner feststellten, ergibt fortdauernde Aufnahme von reichlichem Fett allmählich einen Blutfettspiegel, der einer scheinbaren persistenten Hyperlipämie entspricht. Der Acetongehalt des Blutes war bei den Fällen 17 und 1 nach der Fettbelastung erheblich erhöht. Bei den Fällen 1, 18, 19, 20, 22 und 41, deren Blutacetongehalt während der Hungerzeit einen hohen Wert zeigte, wurde 9 Stunden nach der Fettbelastung eine Zunahme des Plasmafettes beobachtet.

Adlersberg und *Porges* (19) teilten mit, daß beim Normalen nach starker Fettaufnahme am folgenden Tage die Assimilation der Kohlenhydrate vermindert und der Blutzucker erhöht war. Nach *Leites*, *Jussin* und *Wodinsky* (20) findet man bei Hunden, die am Tage vorher viel Butter erhalten hatten, den Blutzuckergehalt stärker erhöht, als wenn man am Tage vorher mit Kohlenhydrat belastet hatte. Aus unseren Versuchen ergibt sich, daß bei Diabetikern, die 3 Tage lang gleiche Nahrung erhalten und am 2. Tage mit reichlicher Butter belastet werden, am 3. Tage die Assimilation der Kohlenhydrate herabgesetzt und Blutzucker und Glykosurie erhöht sind.

Zusammenfassung.

An Nichtdiabetikern und Diabetikern haben wir Versuche mit einmaliger (beim Frühstück) oder mit wiederholter Belastung (beim Frühstück und Mittagessen) mit 1 g Butter pro kg Körpergewicht durchgeführt und den Plasmafettgehalt 3, 6, 9 und 24 Stunden nach der ersten Einführung bestimmt und folgende Ergebnisse erhalten:

1. Beim Nichtdiabetiker erreichte der Plasmafettgehalt bei einmaliger sowie bei zweimaliger Belastung 3 Stunden nach der Einführung das Maximum und kehrte bei einmaliger Belastung nach 6 Stunden und bei doppelter Belastung 9 Stunden nach der ersten Verabreichung beinahe zum Ausgangswert zurück.

2. Beim Diabetiker kommen größere Steigerungen des Plasmafettgehalts und längere Dauer der Hyperlipämie als beim Nichtdiabetiker vor. Derartige anomale Veränderungen traten leicht bei Diabetikern ein, die viel Fett einnahmen oder deren Blutacetongehalt erhöht war.

3. Der Blutzuckerspiegel zeigte bei einmaliger Butterbelastung nach 2 Stunden keine Veränderung.

4. Wenn man 3 Tage lang gleiche Nahrung gab und am 2. Tage die Fettbelastung folgen ließ, so trat in den meisten Fällen am 3. Tage eine längere Dauer der Steigerung des Blutzuckers und eine Zunahme der Glykosurie ein.

Literatur.

1) *Bürger* u. *Habs*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **56**, 640, 1927. — 2) *Wendt*, diese Zeitschr. **250**, 212, 1932. — 3) *Man* u. *Gildea*, J. of biol. Chem. **99**, 61, 1932—1933. — 4) *Curtis*, *Sheldon* u. *Eckstein*, Amer. J. med. Sci. **186**, 548, 1933. — 5) *Gneiting*, Klin. Wochenschr. **12**, 1807, 1933. — 6) *Wilson* u. *Hanner*, J. of biol. Chem. **106**, 323, 1934. — 7) *Tajima*, diese Zeitschr. **276**, 343, 1935. — 8) *Raab*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **89**, 616, 1933. — 9) *Hartmann*, diese Zeitschr. **146**, 307, 1924. — 10) *Arnoldi Collazo*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **40**, 323, 1924. — 11) *Hejda*, Amer. J. med. Sci. **180**, 84, 1930. — 12) *Leites*, *Sorkin* u. *Agaletzkaja*, Klin. Wochenschr. **13**, 1272, 1934. — 13) *Cantoni*, *Oscar* u. *Fossati*, Kongreßzentralbl. f. d. ges. inn. Med. **87**, 408, 1936. — 14) *Katsura*, *Hatakeyama* u. *Tajima*, diese Zeitschr. **269**, 221, 1934; **284**, 312, 1936. — 15) *Hagedorn* u. *Jensen*, ebenda **135**, 47, 1923. — 16) *Engfeldt*, Pincussens Mikromethodik. 1928, 4. Aufl. — 17) *Stolte*, Med. Klin. **29**, 561, 1933. — 18) *Hirsch-Kauffmann* u. *Knauer*, ebenda **29**, 562, 1933. — 19) *Adlersberg* u. *Porges*, ebenda **27**, 1783, 1931. — 20) *Leites*, *Jussin* u. *Wodinsky*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **90**, 378, 1933.

Über die Veränderungen des Plasmafettgehalts beim Diabetes mellitus.

Von

Tatuo Hatakeyama, Kyutaro Takahasi, Yasuo Tutumi und Kaoru Yamazaki.

(Aus der medizinischen Klinik der Tohoku Universität zu Sendai.)

(Eingegangen am 2. Januar 1939.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Schon frühzeitig wurde beobachtet, daß beim Diabetiker häufig ausgeprägte Hyperlipämie eintritt. Nach *Gray* (1) zeigen 78,0% der Diabetiker, nach *Feigl* (2) 55,7% und nach *Blau* und *Nicholson* (3) 42,0% Hyperlipämie. *Bang* (4), *White* und *Hunt* (5) teilten dagegen mit, daß die Häufigkeit der Hyperlipämie beim Diabetiker nicht so groß ist. Auch über die Genese der diabetischen Hyperlipämie gehen die Meinungen der Autoren auseinander. *Neisser* und *Derlin* (6), *Bang* (4), *Zaudy* (7), *Gumprecht* (8), *Reicher* (9), *Wishart* (10) und *Allen* (11) behaupten nämlich, daß die Hyperlipämie von der Nahrung abhängig ist. *Bloor* (12), *Cowie* und *Hoag* (13), *Marsh* und *Waller* (14), *Blatherwick* (15), *Hartmann* (16), *Arnoldi* und *Collazo* (17), *Blix* (18), *Man* und *Peters* (19) indessen verneinen diese Behauptung.

Klemperer und *Umber* (20), *Adlers* (21), *Reicher*, *Beumer*, *Bürger* (22) u. a. äußerten sich, daß beim schweren Diabetiker mit Acidosis der Plasmafettgehalt erhöht ist. *Bang* (4), *Allen* (11), *Hartmann* (16), *Wishart* (10), *Bloor*, *Joslin* und *Hornor* (23) sind dagegen der Ansicht, daß keine bestimmte Beziehung zwischen Plasmafettgehalt und Acidosis besteht. *Joslin*, *Bloor* und *Gray* (24), *Rabinowitsch* (25), *Fonseca* (26) und *Grieshaber* (27) behaupten, daß die Prognose des Diabetes mellitus nicht durch den Blutzuckerspiegel, vielmehr durch den Plasmafettgehalt gestellt wird. Wie oben erwähnt, ist über Genese und Bedeutung der diabetischen Hyperlipämie vieles noch nicht aufgeklärt.

In der vorliegenden Arbeit wollen wir den Plasmafettgehalt während des Hungerns an Diabetikern bestimmen, die Beziehungen des Plasmafettgehalts mit der Diätkur, dem Ernährungszustand, sowie den Gehalt an Zucker und Aceton im Blute während der Hungerzeit und der Glykosurie und ferner den Verlauf einzelner Fälle verfolgend untersuchen, um die Genese und Bedeutung der diabetischen Hyperlipämie aufzuklären.

Methode.

Der Plasmafettgehalt wurde nach der Methode von *Katsura*, *Hatakeyama* und *Tajima* (28) bestimmt. Das Blut wurde nüchtern (14 bis 15 Stunden nach vorangehendem Abendessen) aus der Vena mediana cubiti entnommen. Zur Bestimmung jedes Bestandteiles des Plasmafettes wurden 0,5 ccm Plasma angewendet. Der gesamte Plasmafettgehalt aber wurde durch Anwendung von 0,1 ccm Plasma nach derselben Methode bestimmt. Der Blutzuckergehalt wurde nach der Methode von *Hagedorn* und *Jensen* (29) und der Blutacetongehalt nach der *Engfeldt*schen (30) Methode mit 2,0 ccm Blut bestimmt. Das Körpergewicht wurde nüchtern ermittelt und nach der *Broca*schen (31) Methode die Abweichungen vom Idealgewicht festgestellt. Das Plasma mit makroskopisch erkennbarer leichter Opaleszenz wurde mit +, das hellmilchfarbige mit ++ und das milchig getrübte mit +++ bezeichnet.

Versuchsergebnisse.

1. Plasmafett- und Blutacetongehalt beim Gesunden.

Die nach den obengenannten Methoden durchgeführten Bestimmungen des Plasmafett- und Lipoidgehalts an acht Gesunden (vier männlich, vier weiblich) ergaben folgende Resultate (Tabelle I). Die Phosphatide betrugen — jeweils in 100 ccm — 107 bis 151 mg (durchschnittlich 128 mg), freies Cholesterin 46 bis 73 mg (durchschnittlich 54,3 mg), Cholesterinester 102 bis 232 mg (durchschnittlich 140,1 mg), Neutralfett 23 bis 118 mg (durchschnittlich 79,1 mg) und der gesamte Plasmafettgehalt 347 bis 466 mg (durchschnittlich 401,6 mg). Das Verhältnis des veresterten Cholesterins zum Gesamtcholesterin war 54,8 bis 70,5% (durchschnittlich 61,8%).

Tabelle I. Plasmafett- und Lipoidgehalt beim Gesunden.

Fall	Geschlecht	Alter	Plasmafett- und Lipoidgehalt, mg/100 ccm							Verest. Chol. / Gesamtchol. %
			Phosphatide	freies Cholesterin	Gesamtcholesterin	verest. Cholesterin	Cholesterinester	Neutralfett	Gesamtlipoide	
1	♂	31	151	60	203	143	232	23	466	70,5
2	♂	31	112	50	113	63	102	83	347	54,8
3	♂	25	146	73	152	79	128	81	428	62,9
4	♂	30	143	46	155	109	177	27	393	70,5
5	♀	24	122	50	120	70	113	113	398	58,3
6	♀	21	107	48	127	79	128	97	380	62,3
7	♀	23	124	54	133	79	128	91	397	59,3
8	♀	21	119	54	124	70	113	118	404	56,4
Maximum			151	73	204	143	232	118	466	70,5
Minimum			107	46	113	63	102	23	347	54,8
Durchschnitt ..			128,0	54,3	140,9	86,5	140,1	79,1	401,6	61,8

Aus den nach der obenbeschriebenen Methode ausgeführten Bestimmungen des Blutacetons an zehn Gesunden (fünf männlich, fünf

weiblich) ergab sich, wie man aus Tabelle II ersieht, daß der Gehalt an Blutaceton 0,66 bis 1,43 mg (durchschnittlich 1,05 mg) in 100 ccm betrug. Diese Resultate stimmen beinahe mit denjenigen überein, die *Engfeldt* (32) und *Mariott* (33) bei beliebiger Ernährung gewonnen haben.

Tabelle II. Blutacetongehalt beim Gesunden.

Fall	Geschlecht	Alter	Blutaceton mg/100 ccm
1	♂	25	1,18
2	♂	28	1,43
3	♂	30	0,87
4	♂	28	1,02
5	♂	28	0,92
6	♀	24	1,13
7	♀	22	0,66
8	♀	23	0,82
9	♀	22	1,43
10	♀	21	1,02
Maximum			1,43
Minimum			0,66
Durchschnitt			1,05

2. Verhalten des Plasmafettgehalts in Abhängigkeit von Diätkuren, Ernährungszustand, Blutzucker-, Blutacetongehalt und Glykosurie während der Hungerzeit beim Diabetiker.

In 137 Versuchen an 47 Fällen von schwerem, mittlerem und leichtem Diabetes mellitus haben wir den gesamten Plasmafettgehalt während der Hungerzeit bestimmt und seine Abhängigkeit von Diätkuren, dem Ernährungszustand, dem Blutzucker-, Blutacetongehalt und der Glykosurie während der Hungerzeit untersucht. Wie aus Tabelle III ersichtlich ist, ergaben 36 Versuche an 24 Diabetikern, die gewöhnliche Nahrung zu sich nahmen, daß in 13 Versuchen eine Hypolipämie von weniger als 400 mg/100 ccm, in 14 fast normale Werte von 401 bis 500 mg/100 ccm,

Tabelle III.

Beziehungen zwischen Plasmafettgehalt, Nahrung und Ernährungszustand beim Diabetiker.

Plasmafett mg/100ccm	Diät				Abweichung vom Idealkörpergewicht			
	Gewöhnlich	Beschränkung der Kohlenhydrate	Fettreich	Fall (Versuch)	Verminderung über 10 kg	zwischen 10 kg und Idealgewicht	über Idealgewicht	Zahl der Versuche
unter 400	6 (13)	8 (13)	0	14 (26)	7 (18)	6 (8)	0	13 (26)
401—500	9 (14)	20 (28)	1 (1)	30 (43)	10 (19)	10 (13)	6 (10)	26 (42)
501—600	8 (8)	12 (22)	2 (2)	22 (32)	6 (9)	6 (12)	9 (11)	21 (32)
601—1000	1 (1)	10 (25)	3 (7)	14 (33)	3 (3)	4 (18)	5 (12)	12 (33)
über 1001	0	0	3 (3)	3 (3)	0	1 (1)	2 (2)	3 (3)
Total	24 (36)	50 (88)	9 (13)	83 (137)	26 (49)	27 (52)	22 (35)	75 (134)

in acht geringe Erhöhungen von 501 bis 600 mg/100 ccm und in einem Fall eine Hyperlipämie von 601 mg/100 ccm beobachtet wurde. Unter 88 Versuchen an Diabetikern, die bei Beschränkung der Kohlenhydrate ziemlich viel Fett und Eiweiß zu sich nahmen, trat indessen in 25 Versuchen Hyperlipämie ein. Bei denjenigen Versuchspersonen, die unter leichter Beschränkung der Kohlenhydrate besonders reichliches Fett einnahmen, trat in keinem Versuche Hypolipämie ein, bei allen diesen Fällen erfolgte vielmehr eine Zunahme des Plasmafettgehalts, ja bei manchem trat eine ausgeprägte Hyperlipämie mit einem Gesamtfettgehalt des Plasmas von über 1000 mg/100 ccm ein und das Plasma zeigte eine makroskopisch erkennbare Trübung.

Obwohl *Blix* (18) behauptet, die diabetische Hyperlipämie sei unabhängig von dem Fett in der Nahrung, sind wir doch ebenso wie *Reicher* (9), *Bang* (4), *Allen* (11) u. a. überzeugt, daß sie darauf zurückzuführen ist, daß unter Beschränkung der Kohlenhydrate viel Fett eingenommen wird.

Was die Beziehung zwischen dem Plasmafettgehalt und Ernährungszustand anbelangt, so trat bei unterernährten Fällen, deren Verminderung vom Idealgewicht über 10 kg betrug, häufig Hypolipämie ein. Unter den Versuchspersonen, deren Abweichung vom Idealgewicht bis 10 kg betrug, waren diejenigen, bei denen Hypolipämie eintrat, immer solche die gewöhnliche Nahrung einnahmen, und diejenigen, bei denen Hyperlipämie über 600 mg/100 ccm eintrat, solche die unter Beschränkung der Kohlenhydrate fettreiche Nahrung genossen. Bei den äußerst gut Ernährten, deren Körpergewicht das Idealgewicht überschritt, trat nie Hypolipämie, sondern stets eine Zunahme des Plasmafettgehalts ein.

Denis (34), *Feigl* (2), *Labeé* und *Heitz* (35), *Bing* und *Heckscher* (36), *Bruger*, *Poindexter* (37) u. a. meinen, daß bei Adipositas Plasmafett oder Cholesterin im Blute zunimmt. Auch aus unseren Versuchen ergab sich, daß bei den Unterernährten Hypolipämie und bei den Guternährten eine geringe Zunahme des Plasmafettgehalts eintrat.

Wenn man in bezug auf das Verhältnis zwischen dem Plasmafettgehalt und Blutzucker diejenigen Fälle, deren Blutzucker während der Hungerzeit über 170 mg/100 ccm betrug, von denjenigen, deren Blutzucker unter 170 mg/100 ccm betrug, trennt, so zeigten, wie man aus Tabelle IV ersieht, viele der letzteren Gruppe Hypolipämie, was darauf beruht, daß diese Gruppe leichte Zuckerkranke umfaßt. Abgesehen davon zeigten beide Gruppen im gleichen Verhältnis hohe sowie niedrige Werte des Plasmafettgehalts.

Trennt man diejenigen Fälle, deren Blutacetongehalt während der Hungerzeit über 2,00 mg/100 ccm betrug, von denjenigen, deren Blutacetongehalt unter 2,00 mg/100 ccm betrug, so zeigten die beiden Gruppen

Tabelle IV.

Beziehungen zwischen Plasmafettgehalt und Blutzucker, Blutaceton und Glykosurie beim Diabetiker.

Plasmafett mg/100 ccm	Blutzucker mg/100 ccm		Blutaceton mg/100 ccm		*Nylander*-Reaktion	
	unter 170	über 171	unter 2,00	über 2,01	—	+
unter 400	8 (13)	2 (2)	7 (12)	4 (5)	4 (5)	9 (15)
401—500	17 (21)	10 (11)	18 (21)	10 (11)	13 (16)	14 (20)
501—600	12 (16)	10 (13)	12 (16)	7 (11)	10 (10)	11 (18)
601—1000	7 (18)	5 (7)	7 (14)	6 (10)	6 (11)	8 (10)
über 1001	1 (1)	1 (1)	0	1 (1)	0	3 (3)
Total	45 (69)	28 (33)	44 (63)	28 (38)	33 (42)	45 (66)

gleichermaßen niedrige sowie hohe Werte des Plasmafettgehalts. Bei einer Versuchsperson, deren Blutacetongehalt über 2,00 mg/100 ccm betrug und die fettreiche Nahrung einnahm, war der Plasmafettgehalt über 1000 mg/100 ccm erhöht.

Trennt man diejenigen Fälle, bei denen die *Nylander*sche Reaktion des Harns während der Hungerzeit positiv ausfiel, von denjenigen, bei denen sie negativ ausfiel, so zeigten die beiden Gruppen fast gleichermaßen niedrige sowie hohe Werte des Plasmafettgehalts.

Zwischen dem Plasmafettgehalt und dem Blutzucker- sowie Blutacetongehalt und der Glykosurie während der Hungerzeit besteht also keine bestimmte Beziehung, abgesehen von den Personen, die Fett reichlich einnahmen.

Joslin, *Bloor* und *Gray* (24), *Gray* (1), *Rabinowitsch* (25) u. a. stellten eine parallele Beziehung zwischen Plasmafettgehalt und Blutzucker fest und behaupteten, daß der Plasmafettgehalt für die Prognose der Zuckerkrankheit von größerer Bedeutung als der Blutzuckergehalt sei; bei unseren Diabetikern dagegen, die ziemlich viel Kohlenhydrat aber nicht reichlich Fett einnehmen, besteht keine solche Beziehung zwischen dem Plasmafettgehalt und dem Blutzucker.

3. *Beziehung zwischen dem Plasmafettgehalt und dem Krankheitsverlauf während der Behandlung beim Diabetiker.*

Wir wollen nun bei einzelnen Diabetikern den Plasmafettgehalt im Zusammenhang mit dem Krankheitsverlauf untersuchen.

Fall 1 auf Tabelle V war früher einmal in unserer Klinik aufgenommen gewesen und seine Glykosurie durch die Diätkur zum Schwinden

gebracht worden. Nach der Entlassung genoß er freie Nahrung. Als er zum zweiten Male in unsere Klinik kam, waren wohl der Blutzucker- und Blutacetongehalt sowie auch die Glykosurie erheblich erhöht, aber der Plasmafettgehalt zeigte einen beinahe normalen Wert. Unter Beschränkung der Kohlenhydrate wurden täglich 30 Einh. Insulin zugeführt, wodurch die Glykosurie nach einigen Tagen zum Schwinden gebracht wurde.

Tabelle V. Fall 1. C. S. ♂, 16 J.

Datum	Blutzucker mg/100 ccm	Plasmafett mg/100 ccm	Blutaceton mg/100 ccm	Glykosurie g	Bemerkungen
8. VII. 1934	245			100,0	Diätkur
21. VIII. 1934	125			—	
12. II. 1936	310	440	4,04	394,0	
2. III. 1936	134	332	3,69	20,0	
8. III. 1936		416		8,0	
14. III. 1936	168	348		—	Insulin
18. III. 1936		413		—	
25. IV. 1936	116	355		±	
12. V. 1936	100		1,35	—	

Fall 33 auf Tabelle VI hatte seit ungefähr 2 Wochen unter strenger Beschränkung der Kohlenhydrate vorwiegend Fleisch und Fett eingenommen. Der Blutzuckergehalt und die Glykosurie waren stark erhöht, das Plasma zeigte eine ausgeprägt milchige Trübung und der Plasmafettgehalt hatte erheblich zugenommen. Er bekam bei jeder Mahlzeit eine Schale Reis, Gemüse, Eier, Fische usw. und war dann nach einigen Tagen so gebessert, daß eine erhebliche Abnahme des Blutzucker- und Plasmafettgehalts eintrat und Glykosurie nur nach der Mahlzeit in geringer Menge nachweisbar wurde.

Tabelle VI. Fall 33. T. O. ♂, 45 J.

Datum	Blutzucker mg/100 ccm	Plasmafett mg/100 ccm	Blutaceton mg/100 ccm	Glykosurie %	Bemerkung
25. XI. 1936	300	1080		8,0	
27. XII. 1936	182	610	2,00	0,8	Verminderung der fettreichen Nahrung
27. I. 1937	100	596	1,80	2,0	
27. II. 1937	100	580		0	
12. III. 1937	98	554	1,08	0	

Die Fälle 41 und 42 wurden als Patienten mit beiderseitiger Lungentuberkulose in unsere Klinik aufgenommen. Sie bekamen täglich 30 bis 60 g Butter, 30 g Lebertran und andere fettreiche Nahrung. Nach sechs- bis zehnmonatiger Fortsetzung dieser Diätkur wurde Glykosurie nachgewiesen. In einem Versuche mit wiederholter Zuckerbelastung bei Fall 41 trat Hyperglykämie ein. Der Plasmafettgehalt war stets bedeutend erhöht und das Plasma zeigte manchmal eine milchige Trübung.

Tabelle VII. Fall 41. K. Y. ♂, 48 J.

Datum 1936	Blutzucker mg/100 ccm	Plasmafett mg/100 ccm	Blutaceton mg/100 ccm	Glykosurie g	Bemerkung
4. II.	177	732	2,04	12,5	
13. II.	181	1202	2,30	40,0	
12. III.	220	737		20,0	
15. IV.	150	810		20,0	Insulin
12. VI.	119	827		10,0	

Tabelle VIII. Fall 42. A. K. ♂, 26 J.

Datum	Blutzucker mg/100 ccm	Plasmafett mg/100 ccm	Blutaceton mg/100 ccm	Glykosurie g	Bemerkungen
18. VI. 1936	85			Spuren	Adrenalinversuch
17. VIII. 1936	90	681		„	
22. IX. 1936		759	1,49	„	
30. IX. 1936	80	718	1,64	„	*Radoslav*versuch
31. X. 1936	90	862	1,43	1,3	
9. XI. 1936	92	768	1,54	3,0	*Radoslav*versuch
5. XII. 1936	86	716	1,49	5,0	
12. XII. 1936	87	648		3,7	Insulin
7. I. 1937	77	600		4,0	
22. I. 1937	87	691		3,0	
13. II. 1937		739	1,43		
24. II. 1937	83	774	1,38	5,4	
8. III. 1937	82	810	1,20	5,0	

Die Einführung von Insulin blieb auf die Glykosurie fast wirkungslos. Wie Abb. 1 von Fall 42 zeigt, wurde anfangs keine Hyperglykämie durch die wiederholte Zuckerbelastung und die Adrenalinprobe nachgewiesen, aber der Plasmafettgehalt zeigte stets einen hohen Wert. Aus dem *Radoslav*schen Versuche ergab sich, daß der Blutzuckerspiegel durch die Einführung von Insulin fast keine Veränderung erlitt. Täglich wurden 1 bis 5 g Glykose ausgeschieden, die ausgeschiedene Zuckermenge stand in keiner Beziehung zu der Menge der Kohlenhydrate in der Nahrung und es schien, als handle es sich nur um eine renale Glykosurie. Doch später erhöhte sich der Blutzuckerspiegel allmählich und leichte Hyperglykämie trat nach der Mahlzeit ein, wie man aus den Kurven vom August und Dezember in Abb. 1 sieht. Obgleich der Patient nun etwa einen Monat lang täglich 15 Einh. Insulin bekam, wirkte es doch auf die Glykosurie gar nicht. Der Blutacetongehalt zeigte am Anfang des Auftretens der Glykosurie keinen anomalen Wert und später auch keine Veränderung.

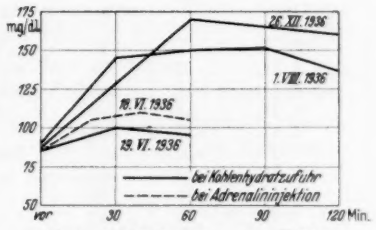


Abb. 1. Blutzuckerkurve nach Kohlenhydratzufuhr und Adrenalininjektion, Fall 42.

Fall 15 in Tabelle IX zeigt ein Beispiel der renalen Glykosurie. Blutzucker und Glykosurie betrugen während der Hungerzeit 96 mg/100 ccm bzw. 1,6% und 1 Stunde nach der Mahlzeit 124 mg/100 ccm bzw. 3,0%. Plasmafett- und Blutacetongehalt zeigten beide einen niedrigen Wert.

Tabelle IX. Fall 15. I. I. ♂, 19 J.

Datum	Blutzucker mg/100 ccm	Plasmafett mg/100 ccm	Blutaceton mg/100 ccm	Glykosurie	Bemerkung
7. III. 1931	95			3,6 g	Insulin
1. V. 1931	89			0,6 %	
11. III. 1937	96	384	1,82	1,6 %	
13. III. 1937		334	1,54	1,5 %	

Beim Fall 16 auf Tabelle X waren Blutzucker, Blutaceton- und Zuckerharnmenge erheblich erhöht und der Plasmafettgehalt zeigte eine mittlere Zunahme. Im Versuch mit Doppelbelastung von je 60 g Butter zeigte der Plasmafettgehalt eine leichte Hyperlipämie. Nach 5 Tagen indessen trat bei dem Patienten ein diabetisches Präcoma ein. Blutzucker und Blutacetongehalt nahmen erheblich zu und, obgleich das Plasma keine makroskopisch erkennbare milchige Trübung zeigte, nahm auch der Plasmafettgehalt zu. Durch Einspritzung von Insulin und Traubenzucker nahmen Blutzucker und Blutacetongehalt sowie der Plasmafettgehalt erheblich ab und das diabetische Präcoma verschwand, aber er starb nach einigen Tagen an akuter Pneumonie.

Tabelle X. Fall 16. S. H. ♂, 21 J.

Datum 1936	Zeit	Blutzucker mg/100 ccm	Plasmafett mg/100 ccm	Blutaceton mg/100 ccm	Glykosurie Tagesmenge	Bemerkungen
30. I.		345	552	5,17	115 g	Fettbelastungsprobe 120 g Butter
4. II.	12h	753	826	30,80		
4. II.	14	783	827	34,37		Insulin 190 Einh.
4. II.	18	566	726	22,78		
4. II.	20	404			48 g	
5. II.	10	191	604			
5. II.	12	197		7,01		Insulin 60 Einh.
5. II.	15	159				
5. II.	18	210			20 g	

Fall 3 in Tabelle XI war ein Diabetiker mit Basedowscher Krankheit. Der Blutzucker war nach der Mahlzeit erheblich erhöht und täglich wurden 30 bis 50 g Glykose ausgeschieden. Blutaceton- und Plasmafettgehalt zeigten niedrige Werte. Als ihm unter Beschränkung der Kohlenhydrate reichlich Fett und Insulin gegeben wurde, besserten sich die Zustände des Diabetes mellitus mit der Zeit erheblich.

Zusammenfassend geht aus den Untersuchungsergebnissen der obenbeschriebenen 7 Fälle hervor, daß es sich bei Fall 1 um insulären

Tabelle XI. Fall 3. M. K. ♀, 45 J.

Datum	Blutzucker mg/100 ccm	Plasmafett mg/100 ccm	Blutaceton mg/100 ccm	Glykosurie g	Bemerkung
5. X. 1936	139	361	1,84	29	
5. XI. 1936	159	376	1,79	33	
12. XI. 1936	161	328	1,84	50	
4. II. 1937	134	444		5	Insulin
1. III. 1937	122	402	2,00	4	

Diabetes handelt, wobei der Plasmafettgehalt nicht bedeutend erhöht ist. Bei einem solchen Fall ist durch Einführung von Insulin eine erhebliche Abnahme des Blutzuckers und der Glykosurie zu erwarten. Fall 16 ist insulärer Diabetes mit Acidosis. Der Plasmafettgehalt nahm mit dem Auftreten der Acidosis zu. Auch Fall 33 ist insulärer Diabetes. Infolge der reichlichen Fettzufuhr trat Hyperlipämie ein, so daß Blutzucker und Glykosurie erheblich zunahmen. Aber durch die Beschränkung des Fettes in der Nahrung nahmen Blutzucker und Glykosurie mit der Abnahme des Plasmafettgehalts erheblich ab. Bei den Fällen 41 und 42 wurde durch die lange Zeit fortgesetzte reichliche Fettzufuhr zuerst eine Störung des Fettstoffwechsels und dann der Diabetes mellitus hervorgerufen. Der Plasmafettgehalt zeigte stets einen hohen Wert und nahm nicht ab, auch wenn das Nahrungsfett beschränkt wurde. Bei solchen Fällen läßt sich eine Abnahme des Blutzuckers und der Glykosurie durch Einführung von Insulin nicht erwarten. Fall 15 ist renaler Diabetes. Bei ihm zeigte der Plasmafettgehalt einen normalen oder niedrigen Wert. Fall 3 schien extrainsulärer Diabetes zu sein, aber bei der Untersuchung erwies er sich als insulärer Diabetes. Der Plasmafettgehalt zeigte am Anfang einen niedrigen Wert. Bei einem solchen Fall läßt sich von der Einführung mäßigen Fettes in die Nahrung ein günstiger Verlauf erwarten.

Die Resultate unserer Versuche zeigen deutlich, daß man bei der Behandlung des Diabetes mellitus auch den Plasmafettgehalt ebenso wie den Blutzucker bestimmen und in der Nahrung berücksichtigen soll, damit der Plasmafettgehalt nicht zunehme.

4. Die Plasmafettbestandteile beim Diabetiker.

In 51 Versuchen an 43 Diabetikern haben wir den Plasmafett- und Lipoidgehalt während der Hungerzeit bestimmt und ihre Durchschnittswerte mit denen des Gesunden verglichen. Die Resultate der Versuche wurden in Abb. 2 gezeigt. Beim Diabetiker waren alle Bestandteile des Plasmafettes erhöht, d. h. Phosphatide nahmen um 35,2%, freies Cholesterin um 52,5%, Gesamtcholesterin um 33,4%, Cholesterinester um 22,1%, Neutralfett um 61,5% und Gesamtfettgehalt um 38,2% zu.

Wenn man die Beziehungen des Plasmafettgehalts mit der Diätkur und dem Ernährungszustand nicht in Betracht zieht, so ist der Plasmafett- und Lipoidgehalt während der Hungerzeit beim Diabetiker im Vergleich mit demselben beim Normalen erheblich erhöht, und zwar nimmt das Neutralfett am ausgeprägtesten zu, dann folgen freies Cholesterin, Phosphatide und Cholesterinester.

Nach *Ruszynack* (38) tritt der Estersturz um so häufiger ein, je schwerer der Diabetes mellitus wird. Auch in unseren Versuchen

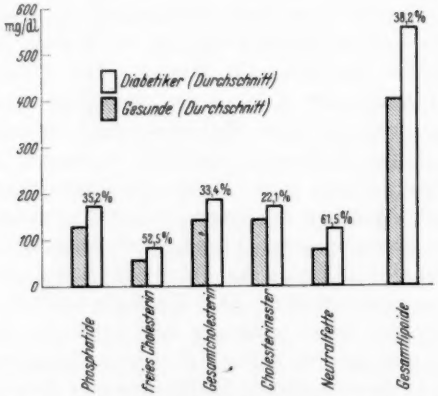


Abb. 2. Plasmafettbestandteile der Gesunden und der Diabetiker.

stellten wir eine leichte Neigung zum Estersturz fest. Aus 51 Versuchen an 43 Fällen ergab sich nämlich, daß in 12 Versuchen an 10 Fällen ein deutlicher Estersturz nachgewiesen wurde, aber nur an einem Fall wurde er stets beobachtet. In unserer Untersuchung gelang es uns daher nicht, eine bestimmte Beziehung zwischen dem Estersturz und den Zuständen des Diabetes mellitus zu finden.

Zusammenfassung.

1. Der Plasmafettgehalt beim Diabetiker steht in enger Beziehung zu der Art der Nahrung. Bei einem Diabetiker, der gewöhnliche japanische Nahrung einnimmt, liegt der Plasmafettgehalt meist in den normalen Grenzen und bei dem, der unter Beschränkung der Kohlenhydrate reichliches Fett einnimmt, erfolgt meist eine Zunahme des Plasmafettgehalts.

2. Was die Beziehung zwischen dem Plasmafettgehalt und Ernährungszustand des Diabetikers anlangt, so zeigt der Plasmafettgehalt beim Unterernährten einen niedrigen und beim Guternährten meist einen hohen Wert.

3. Beim Diabetiker wurde zwischen Plasmafettgehalt sowie Estersturz einerseits und den pathologischen Zuständen, d. h. Blutzucker-, Blutacetongehalt und Glykosuriemenge andererseits keine bestimmte Beziehung festgestellt.

Literatur.

1) *Gray*, Amer. J. med. Sci. **168**, 35, 1924. — 2) *Feigl*, diese Zeitschr. 92, 282, 1918. — 3) *Blau* u. *Nicholson*, Arch. of intern. Med. **26**, 738, 1920. — 4) *Bang*, diese Zeitschr. **94**, 359, 1919. — 5) *White* u. *Hunt*, New England J. Med. **202**, 607, 1930. — 6) *Neisser* u. *Derlin*, Zeitschr. f. klin. Med. **51**, 428, 1904. — 7) *Zaudy*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **70**, 301, 1901. — 8) *Gumprecht*, Deutsch. med. Wochenschr. **20**, 756, 1894. — 9) *Reicher*, Verh. deutsch. Kongr. inn. Med. **28**, 327, 1911 ; **30**, 155, 1913. — 10) *Wishart*, J. metab. Res. **2**, 199, 1922. — 11) *Allen*, ebenda **2**, 219, 1922. — 12) *Bloor*, J. of biol. Chem. **49**, 201, 1921; *Bloor*, *Gilletti* u. *James*, ebenda **75**, 61, 1927. — 13) *Cowie* u. *Hoag*, J. Amer. Med. Assoc. **77**, 1493, 1921. — 14) *Marsh* u. *Waller*, Arch. intern. Med. **31**, 63, 1923. — 15) *Blatherwick*, J. of biol. Chem. **49**, 193, 1921. — 16) *Hartmann*, diese Zeitschr. **146**, 307, 1924. — 17) *Arnoldi* u. *Collazo*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **40**, 323, 1924. — 18) *Blix*, Acta med. scand. **64**, 142, 1926. — 19) *Man* u. *Peters*, J. of clin. Inv. **13**, 237, 1934; **14**, 579, 1935. — 20) *Klemperer* u. *Umber*, Zeitschr. f. klin. Med. **65**, 340, 1908. — 21) *Adlers*, Berl. klin. Wochenschr. **46**, 1453, 1909. — 22) *Beumer* u. *Bürger*, Zeitschr. f. exper. Path. u. Therap. **13**, 362, 1913. — 23) *Bloor*, *Joslin* u. *Hornor*, J. of biol. Chem. **26**, 417, 1916. — 24) *Joslin*, *Bloor* u. *Gray*, J. Amer. med. Assoc. **69**, 375, 1917. — 25) *Rabinowitch*, Arch. of intern. Med. **43**, 363, 1929; Canad. med. Assoc. J. **28**, 162, 1933. — 26) *Fonseca*, Deutsch. med. Wochenschr. **50**, 362, 1924. — 27) *Grieshaber*, Zeitschr. f. klin. Med. **126**, 405, 1934. — 28) *Katsura*, *Hatakeyama* u. *Tajima*, diese Zeitschr. **269**, 221, 1934; **284**, 312, 1936. — 29) *Hagedorn* u. *Jensen*, ebenda **135**, 47, 1923. — 30) *Engfeldt*, Pincussens Mikromethodik, 4. Aufl., 1928. — 31) *Broca*, *Brugsch* u. *Schittenhelm*, Lehrb. klin. Diagn. u. Unters.-Meth. 1923, Berl., 6. Aufl. — 32) *Engfeldt*, Ber. üb. d. ges. Physiol. **5**, 252, 1921. — 33) *Mariott*, J. of biol. Chem. **18**, 507, 1914. — 34) *Denis*, ebenda **29**, 93, 1917. — 35) *Labbé* u. *Heitz*, Bull. mem. de la Soc. Méd. de Hopitaux de Paris **48**, 1546, 1924. — 36) *Bing* u. *Heckscher*, diese Zeitschr. **149**, 90, 1924. — 37) *Bruger* u. *Poindexter*, Arch. of intern. Med. **53**, 423, 1934. — 38) *Ruszynak*, Klin. Wochenschr. **7**, 340, 1928.

Photochemische Autoxydation und biologische Wasserzersetzung.

Von

K. Yamafuji, K. So und **H. Tin.**

(Aus dem Institut für Biochemie am Kaiserlichen Institut für Zuckerforschung in Tainan, Japan.)

(Eingegangen am 9. Januar 1939.)

Obwohl in Gegenwart von biologischen Sensibilisatoren die photochemische Wasserzersetzung auch unter vollständigem Ausschluß von Sauerstoff stattfindet, so ist die dabei entstandene Hydroperoxydmenge doch bedeutend geringer als bei Anwesenheit von Sauerstoff (1) (2). Wir haben in einer vorhergehenden Arbeit (1) diese Tatsache dadurch erklärt, daß der bei der Reaktion $2\,H_2O \rightarrow H_2O_2 + 2\,H$ frei gewordene Wasserstoff sich weiter unter Bildung von H_2O_2 mit Sauerstoff verbindet, und daß durch Verschwinden des freien Wasserstoffs die umgekehrte Reaktion $H_2O_2 + 2\,H \rightarrow 2\,H_2O$ gehemmt wird. Es scheint uns aber außerdem möglich zu sein, daß das Licht irgendeinen Dehydrierungsvorgang $AH_2 \rightarrow A + 2\,H$ beschleunigt, und daß der abgegebene Wasserstoff in Gegenwart von Sauerstoff zur Bildung des Wasserstoffperoxyds dient, d. h. daß eine Hydroperoxydbildung durch photochemische Autoxydation stattfindet.

In der vorliegenden Untersuchung haben wir festgestellt, daß bei der Bestrahlung der wässerigen Lösungen biologischer Präparate das Wasserstoffperoxyd sowohl durch Wasserzersetzung als auch durch photochemische Autoxydation entsteht. Da aber, wie bekannt, bei Abwesenheit von Wasser keine Hydroperoxydbildung durch Autoxydation erfolgt, konnten durch diesen Befund sowie durch die früher mitgeteilten Arbeiten (1) (2) unsere Kenntnisse über die physiologische Wirkung des Lichtes und des Wassers auf den Organismus erweitert werden.

I.

Die in den früheren Untersuchungen (1) (2) als Sensibilisatoren verwendeten biologischen Präparate wurden durch wiederholtes Eindampfen und Trocknen in Luft bereitet. Es besteht daher fast keine Möglichkeit, daß diese Präparate sehr leicht autoxydable Körper enthalten. Wir haben nun die Lichtwirkung auf einige autoxydable Substanzen im Vergleich mit den von uns hergestellten Präparaten untersucht.

Die in den vorliegenden Versuchen verwendeten Präparate wurden auf gleiche Weise wie Fraktion C der vorigen Mitteilung (2) hergestellt.

Mit He, Bt, Ml und Ht bezeichnen wir die Präparate aus lebenden Hefezellen (Sacch. formosensis), aus grünen Zuckerrohrblättern, aus Froschmuskel und aus Froschhaut. Zur Bestrahlung wurden 20 mg dieser pulverisierten Präparate oder einiger reiner organischer Verbindungen in 15 ccm Wasser gelöst und in einen kleinen *Erlenmeyer*-Kolben gebracht. Der Kolben wurde dann verschlossen und 5 Stunden den Sonnenstrahlen ausgesetzt. Da die wässerige Lösung der autoxydablen Verbindungen nach der Bestrahlung noch stark reduzierende Eigenschaft besitzt, ist die jodometrische Methode zur Bestimmung des entstandenen Wasserstoffperoxyds unbrauchbar. Wir haben deshalb in dieser Versuchsreihe die manometrische Methode von *Fujita* und *Kodama* (3) verwendet. Als Katalysatoren dienten 0,2 ccm des mit Wasser hämolysierten Blutes oder der Katalaselösung aus Ochsenleber [vgl. (1) (2)]. Die belichtete Lösung wurde vor der Hydroperoxydbestimmung mit Phosphatpuffer auf $p_H = 6{,}8$ eingestellt. Um Volumschwankungen durch Sauerstoffabsorption möglichst zu vermeiden, wurde das *Warburg*sche Gefäß mit Stickstoff gefüllt (Tabelle I).

Tabelle I.

Substanz	Hydroperoxyd in mg		Präparat	Hydroperoxyd in mg	
	hell	dunkel		hell	dunkel
Cysteinhydrochlorid ..	0,095	0,080	He	0,115	0
Ascorbinsäure	0,094	0,100	Bt	0,095	0,009
Adrenalonhydrochlorid	0,105	0,081	Ml	0,075	0,003

Tabelle I zeigt, daß in den wässerigen Lösungen der leicht autoxydablen Substanzen das Wasserstoffperoxyd, wie bekannt, selbst im Dunkeln gebildet wird, und daß das Licht hierbei auf die Hydroperoxydbildung keine Wirkung ausübt. Im Zusammenhang mit diesem Befund wurde andererseits die bei der Belichtung der wässerigen Lösung von Thioglykolsäure, Cystein, Glutathion, Adrenalon und Ascorbinsäure absorbierte Sauerstoffmenge nach der manometrischen Methode von *Warburg* bestimmt. Als Lichtquelle diente eine von dem Meßgefäß 15 cm entfernte Glühbirne von 200 Watt, die Temperatur des Thermostaten war 32°. Durch diese Versuche konnten wir feststellen, daß die Autoxydation der oben erwähnten Substanzen durch Licht nicht beschleunigt wird.

Bei den anderen Versuchen wurde aber gefunden, daß das Licht auf die Sauerstoffaufnahme der wässerigen Lösungen der von uns bereiteten Präparate einen beschleunigenden Einfluß hat (s. Tabelle IX und X) und ferner, daß bei der Bestrahlung der alkalisch gemachten Lösungen eine stärkere Sauerstoffabsorption erfolgt als bei der Belichtung der sauer gemachten (Tabelle II).

Wir haben dann die Hydroperoxydbildung bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen untersucht. Die wässerige Lösung der biologischen Präparate wurde hierbei mit Sonnenlicht bestrahlt und das entstandene Wasserstoffperoxyd nach der früher mitgeteilten

Tabelle II. 5 mg Präparat in 5 ccm Wasser. Versuchstemperatur: 37°. Gasraum: Sauerstoff. Bestrahlungsdauer: $2^1/_2$ Stunden.

Präparat	p_H	Sauerstoffverbrauch in cmm	Präparat	p_H	Sauerstoffverbrauch in cmm
He	5,0	— 5,0	Ml	5,8	0
	7,0	— 6,5		8,4	— 23,5
	8,8	— 10,0	Ht	6,0	— 7,5
Bt	4,8	— 1,5		8,7	— 10,0
	7,6	— 4,5			

Methode (1) bestimmt. Wie aus Tabelle III ersichtlich, wird in der alkalischen Lösung eine etwas größere Menge Hydroperoxyd gebildet als in der sauren Lösung. Während bei He, Ml und Ht im Dunkeln fast keine Hydroperoxydbildung beobachtet wurde, konnte in der nicht bestrahlten Bt-Lösung von $p_H = 7{,}8$ eine geringe Menge Wasserstoffperoxyd (0,013 mg) nachgewiesen werden. Nach unseren bisherigen Erfahrungen findet solche Hydroperoxydentstehung im Dunkeln nur bei pflanzlichen Präparaten statt. Diese Erscheinung beruht wahrscheinlich auf einer Autoxydation von Polyphenolen, die durch Alkali reaktionsfähiger geworden sind.

Tabelle III. 10 mg Präparat in 10 ccm Wasser. Bestrahlungsdauer: 4 Stunden.

Präparat	p_H	Hydroperoxyd in mg	Präparat	p_H	Hydroperoxyd in mg
He	5,2	0,058	Ml	5,6	0,023
	7,0	0,063		8,2	0,055
	8,6	0,075	Ht	5,8	0,140
Bt	4,9	0,073		8,9	0,145
	7,8	0,103			

Die obenerwähnten Untersuchungen zeigen im allgemeinen, daß eine stärkere Hydroperoxydbildung erfolgt, wenn die absorbierte Sauerstoffmenge größer ist. Es ist aber sehr schwer zu entscheiden, ob zwischen dem Sauerstoffverbrauch und der Hydroperoxydentstehung eine genaue Proportionalität besteht, denn das einmal entstandene Wasserstoffperoxyd spaltet sich unter Umständen sofort oder dient zur Oxydation organischer Substanzen.

II.

Unserer Meinung nach wird die photochemische Hydroperoxydentstehung durch die Reaktionen $2\,H_2O = H_2O_2 + 2\,H$ und $AH_2 + O_2 = H_2O_2 + A$ (A = Akzeptor) hervorgebracht. Deshalb müssen die

bei Abwesenheit von Sauerstoff belichteten wässerigen Lösungen der biologischen Präparate reduzierende Eigenschaften haben. Wir konnten die reduzierende Wirkung solcher Lösung indirekt dadurch nachweisen, daß wir das bei der Bestrahlung gebildete Wasserstoffperoxyd einerseits nach der jodometrischen Methode, andererseits nach der manometrischen bestimmten. Selbstverständlich verbrauchen reduzierende Stoffe das durch Wasserstoffperoxyd frei gemachte Jod und erniedrigen den Titrationswert. Die Belichtungsversuche unter vollständigem Ausschluß von Sauerstoff wurden in ähnlicher Weise wie früher (1) ausgeführt. Bei der Bestrahlung mit einer Quecksilberquarzlampe wurde ein Quarzgefäß und bei der mit Sonnenlicht ein Glasgefäß verwendet (Tabelle IV).

Tabelle IV. 20 mg Präparat in 15 ccm Wasser. Bestrahlungsdauer: 5 Stunden.

Lichtquelle:	Quecksilberquarzlampe		Sonnenlicht	
Präparat	ermittelte Hydroperoxydmenge in mg			
	manometrisch	titrimetrisch	manometrisch	titrimetrisch
He	0,053	0,007	0,030	0,004
Bt	0,070	0,023	0,026	0,005
Ml	0,042	0,006	0,105	0,049
Ht	0,049	0,003	0,067	0,008

Da aber bei Belichtung in Gegenwart von Sauerstoff der abgegebene Wasserstoff zur Bildung von Wasserstoffperoxyd verbraucht wird, muß die nach der jodometrischen Methode ermittelte Hydroperoxydmenge mit der manometrisch ermittelten übereinstimmen. Diese Annahme wurde durch die folgenden Versuche (Tabelle V) bestätigt.

Tabelle V.

Lichtquelle:	Quecksilberquarzlampe		Sonnenlicht	
Präparat	ermittelte Hydroperoxydmenge in mg			
	manometrisch	titrimetrisch	manometrisch	titrimetrisch
He	0,147	0,126	0,189	0,186
Bt	0,238	0,213	0,193	0,199
Ht	0,133	0,154	0,185	0,207

Bei Bestrahlung unter Sauerstoffausschluß entsteht das Wasserstoffperoxyd ohne Zweifel nur durch die Wasserzersetzung. In Gegenwart von Sauerstoff scheint es gegenwärtig unmöglich zu sein, das Verhältnis der durch Wasserzersetzung entstandenen Hydroperoxydmenge zu der durch Autoxydation der als Sensibilisatoren zugesetzten organischen Substanzen gebildeten genau zu bestimmen. Um dieses Verhältnis

zu ermitteln haben wir versucht, leicht oxydable Substanzen durch Vorbelichtung bei Anwesenheit von Sauerstoff vorher zu beseitigen. Zu diesem Zweck wurde das Präparat He allein oder seine wässerige Lösung als dünne Schicht in eine Glasschale gebracht und in 10 cm Entfernung anfangs mit einer Metallfadenlampe von 100 Watt belichtet. Nach 72 Stunden wurde die 100 Watt-Lampe durch eine 200 Watt-Lampe ersetzt und die Bestrahlung fortgesetzt. Während der Vorbelichtung wurde von Zeit zu Zeit ein aliquoter Teil des Präparats entnommen, auf 100° erhitzt und pulverisiert. Das in dieser Weise hergestellte Pulver wurde dann wieder in Wasser aufgenommen, hierauf im Abstand von 15 cm mit einer 200 Watt-Lampe bestrahlt und das gebildete Wasserstoffperoxyd jodometrisch bestimmt (Tabelle VI).

Tabelle VI. 20 mg vorbelichtetes Präparat in 10 ccm Wasser. Bestrahlungsdauer: 4 Stunden.

Vorbestrahlungsdauer in Std.	Hydroperoxd in mg		Vorbestrahlungsdauer in Std.	Hydroperoxyd in mg	
	Vorbestrahlt mit Wasser	Vorbestrahlt ohne Wasser		Vorbestrahlt mit Wasser	Vorbestrahlt ohne Wasser
0	0,022	0,022	53	0,014	0,012
7	0,015	0,016	72	0,012	0,012
15	0,014	0,016	83	0,013	0,013
23	0,015	0,017	91	0,013	0,012
32	0,015	0,015	99	0,012	0,013
40	0,013	0,016			

Aus Tabelle VI geht hervor, daß bei der Bestrahlung des Ausgangspräparats eine etwas größere Menge Hydroperoxyd gebildet wird als bei Belichtung der einmal vorbestrahlten Präparate. Es ist auch bemerkenswert, daß bei den vorbelichteten Präparaten eine ungefähr gleichbleibende Hydroperoxydmenge gebildet wird, deren Entstehung wahrscheinlich nur auf Wasserzersetzung beruht. Bei der Bestrahlung des nicht vorbelichteten Präparats findet aber neben der Wasserzersetzung sicherlich noch eine Hydroperoxydbildung durch photochemische Autoxydation statt. Wir müssen bei solchen Versuchen berücksichtigen, daß im allgemeinen die sensibilisierende Wirkung organischer Substanzen durch Belichtung in Gegenwart von Sauerstoff allmählich herabgesetzt wird. Über die Beziehungen zwischen dem Zerstörungsgrad der Sensibilisatoren im Präparat und der Vorbelichtungsdauer können wir hier nichts mit Sicherheit sagen.

III.

Wie oben erwähnt, beschleunigt das Licht die Sauerstoffabsorption der wässerigen Lösung biologischer Präparate. Da das Wasserstoffperoxyd ein starkes Oxydationsmittel ist, muß auch der Hydroperoxyd-

verbrauch der Präparate durch Belichtung befördert werden. Um den Grad dieses Hydroperoxydverbrauchs zu ermitteln, haben wir die folgenden Versuche durchgeführt (Tabelle VII).

Tabelle VII.

Lichtquelle: Sonne. Bestrahlungsdauer: $4^1/_2$ Stunden.

A: 1 ccm n/100 H_2O_2 + 9 ccm Wasser. Belichtung = Aa, im Dunkeln = Ab.
B: 20 mg Präparat + 1 ccm n/100 H_2O_2 + 9 ccm Wasser. Belichtung = Ba, im Dunkeln = Bb.
C: 20 mg Präparat + 10 ccm Wasser. Belichtung = Ca.

Hydroperoxyd in mg		Präparat	Hydroperoxyd in mg		
Aa	Ab		Ba	Bb	Ca
0,160	0,165	He	0,201	0,122	0,102
0,151	0,166	Bt	0,180	0,136	0,108
0,162	0,167	Ml	0,184	9,155	0,062
1,159	0,168	Ht	0,209	0,148	0,138

Das Wasserstoffperoxyd wird schon im Dunkeln einigermaßen durch die oben angeführten Präparate verbraucht. Im Licht findet aber ein viel stärkerer Verbrauch statt.

In tierischen und pflanzlichen Organismen befinden sich zahlreiche Stoffe, durch welche das Wasserstoffperoxyd katalytisch gespalten wird. Es besteht die Möglichkeit, daß die von uns bereiteten Präparate noch einige solche Stoffe enthalten, deshalb haben wir den Einfluß von Schwermetallen auf die photochemische Hydroperoxydbildung untersucht (Tabelle VIII).

Tabelle VIII. Lichtquelle: Sonne. Bestrahlungsdauer: 5 Stunden.

	20 mg He + 10 ccm Wasser	20 mg He + 1 ccm n/1000 $CuSO_4$ + 9 ccm Wasser	20 mg He + 1 ccm n/1000 $FeCl_3$ + 9 ccm Wasser
Hydroperoxyd in mg	0,103	0,015	0,006

Bei Bestrahlung in Gegenwart geringer Cu- oder Fe-Mengen, wurde also nur sehr geringe oder fast keine Hydroperoxydbildung beobachtet. Dies ist auf die Zersetzung des gebildeten Wasserstoffperoxyds durch diese Metalle zurückzuführen.

IV.

Um ein klareres Bild von photochemischer Hydroperoxydbildung zu gewinnen, müssen wir das Verhältnis zwischen absorbierter Sauerstoffmenge und entstandener Hydroperoxydmenge bestimmen. Von den Reaktionen $2\,H_2O \rightarrow 2\,H + H_2O_2$, $2\,H + O_2 \rightarrow H_2O_2$, $A\,H_2 + O_2 \rightarrow A + H_2O_2$ und $3\,H_2O_2 \rightarrow 3\,H_2O + 1^1/_2\,O_2$ erwartet man, daß

die aus dem photochemisch gebildeten Wasserstoffperoxyd katalytisch entwickelte Sauerstoffmenge über die Hälfte der während der Bestrahlung verbrauchten Sauerstoffmenge beträgt. Die Messung des Sauerstoffs erfolgte nach der manometrischen Methode von *Warburg* (Tabelle IX).

Tabelle IX. 100 mg Präparat in 5 ccm Wasser. Gas: Sauerstoff. Temperatur: 37°. Metallfadenlampe von 200 Watt. Abstand vom Leuchtfaden 20 cm. Bestrahlungsdauer: 3 Stunden. Katalase: Blut.

Präparat	Absorbierter Sauerstoff in cmm		Entwickelter Sauerstoff in cmm	
	hell	dunkel	hell	dunkel
He	− 51,0	− 31,0	+ 20,0	+ 0,5
Bt	− 54,0	− 41,0	+ 14,0	+ 1,0

Wie wiederholt erwähnt, findet in den wässerigen Lösungen biologischer Präparate im Dunkeln fast keine Hydroperoxydbildung statt. Tabelle IX zeigt aber, daß diese Lösungen selbst im Dunkeln eine beträchtliche Menge Sauerstoff aufnehmen. Es ist bemerkenswert, daß hierbei der im Dunkeln absorbierte Sauerstoff fast nicht zur Entstehung von Wasserstoffperoxyd dient. Wenn man nur die Differenz zwischen der bei der Bestrahlung und der im Dunkeln absorbierten Sauerstoffmenge als die bei der Hydroperoxydbildung beteiligte Sauerstoffmenge betrachtet, so kann man sagen, daß die Versuche in Tabelle IX die Richtigkeit der obenerwähnten Annahme völlig bestätigen. Zieht man aber die gesamte absorbierte Sauerstoffmenge in Rechnung, so ist die aus dem Wasserstoffperoxyd entwickelte Menge Sauerstoff unter der Hälfte der verbrauchten Menge.

Um einwandfreie Daten zu erhalten, wurden zahlreiche Vorversuche durchgeführt. Da es im allgemeinen sehr schwer ist, die Hydroperoxydbildung im Organismus oder bei verschiedenen biochemischen Reaktionen quantitativ zu verfolgen, ist es notwendig, die geeignetsten Versuchsbedingungen zu finden. Wir haben z. B. versucht bei der Bestimmung des gebildeten Wasserstoffperoxyds das Abfangverfahren mit Cerohydroxyd (4) zu verwenden. Dieses Verfahren gibt keine befriedigenden Werte, denn das suspendierte Cer-Reagens vermindert die Lichtdurchlässigkeit. Auch die Kaliumpermanganatmethode kann nicht zur Hydroperoxydbestimmung benutzt werden: Permanganat wird in den wässerigen Lösungen der Präparate bis zu gewissem Grade zur Oxydation organischer Substanzen verbraucht und setzt aus den Lösungen Gas in Freiheit.

Schließlich haben wir die Präparate wie bei den Versuchen in Tabelle VI vorbelichtet und dadurch leicht oxydable Substanzen

vorher beseitigt. Bei He wurden 2 g Präparat in 25 ccm Wasser gelöst, in ein Glasgefäß gebracht und 69 Stunden im Abstand von 15 cm mit einer 200 Watt-Lampe unter Lüftung bestrahlt. Bei Bt wurde 1 g Präparat in 20 ccm Wasser aufgenommen, in eine Glasschale eingetragen, mit einer Glasplatte bedeckt und 28 Stunden den Sonnenstrahlen ausgesetzt. Die vorbelichteten Lösungen wurden eingedampft, getrocknet und dann pulverisiert. Das bei der Bestrahlung der wässerigen Lösung des so vorbelichteten Präparats entstandene Wasserstoffperoxyd wurde jodometrisch bestimmt (Tabelle X). Gleichzeitig wurde die im Dunkeln durch dasselbe Präparat verbrauchte Hydroperoxydmenge ermittelt (vgl. Tabelle IX) und der gefundene Wert zu der durch Belichtung des Präparats gebildeten Hydroperoxydmenge addiert.

Tabelle X. 50 mg vorbelichtetes Präparat in 5 ccm Wasser. Gas: Sauerstoff. Lichtquelle: 200 Watt-Lampe. Abstand vom Leuchtfaden 10 cm. Bestrahlungsdauer: 1 Stunde.

Präparat	Absorbierter Sauerstoff in mg	Entwickelter Sauerstoff in mg	Präparat	Absorbierter Sauerstoff in mg	Entwickelter Sauerstoff in mg
He	0,062	0,042	Bt	0,039	0,049

Bei den vorbelichteten Präparaten wurde im Dunkeln kein Sauerstoffverbrauch beobachtet. Die Zahlen in Tabelle X zeigen deutlich, daß die aus dem gebildeten Wasserstoffperoxyd durch Katalase entwickelte Menge Sauerstoff über die Hälfte der durch Präparatlösung aufgenommenen Sauerstoffmenge ist. Wenn man die im Licht durch das Präparat verbrauchte Hydroperoxydmenge in Rechnung zieht, so wird die entwickelte Sauerstoffmenge in der Tabelle noch größer; denn das Licht, wie oben erwähnt, beschleunigt den Hydroperoxydverbrauch der biologischen Präparate.

Literatur.

1) *K. Yamafuji, M. Fujii* u. *M. Nishioeda*, diese Zeitschr. **296**, 348, 1938. — 2) *K. Yamafuji, M. Nishioeda* u. *K. So*, ebenda **298**, 293, 1938. — 3) *A. Fujita* u. *T. Kodama*, ebenda **232**, 15, 1931. — 4) *H. Wieland* u. *B. Rosenfeld*, Liebigs Ann. d. Chem. **477**, 71, 1930.

Studien über Phosphatase.

VIII. Mitteilung:

Über die Phosphatasenaktivität des Blutes, Serums und Harns bei chronischer myeloischer Leukämie.

Von

Ryuzo Iwatsuru und **Kimio Nanjo.**

(Aus der II. medizinischen Klinik der Kaiserlichen Universität zu Osaka.)

(Eingegangen am 19. Dezember 1938.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

Iwatsuru, *Umeno* und *Minami*, die früher in unserem Laboratorium die Phosphatasenaktivität des Blutes sowie der Organe untersuchten, fanden dieselbe bei chronischer myeloischer Leukämie beträchtlich stärker, bei der akuten lymphatischen Leukämie dagegen bei weitem niedriger als im Normalfalle.

Kay, *Bodansky* und deren Schüler fanden schon, daß die Phosphatase im menschlichen Blutserum vorhanden ist — wenn auch in sehr niedriger Aktivität — und nach Einnahme großer Mengen Kohlenhydrate deutlich zunimmt; außerdem stellten sie fest, daß sie ebenso bei Osteosclerosis fragilis generalisata und anderen Knochenkrankheiten beträchtlich zunimmt. Sie führten den Ursprung der Serumphosphatase gesunder Individuen auf osteogene Quellen zurück, während *R. Robison* denselben den Blutleukocyten zuschreiben wollte.

Im Gegensatz hierzu weiß man über die Anwesenheit der Phosphatase im Harn nur sehr wenig. *Demuth* und *Kutscher* haben sie im Harn von Kindern und Erwachsenen sicher nachgewiesen, wenn auch ihre Aktivität nur gering war, so daß ihre Wirkung innerhalb von 24 Stunden noch kaum zum Vorschein gekommen war. Dieses wurde später von *Umeno* geprüft und bestätigt. Die Herkunft dieser Phosphatase wollte *Kutscher* von der Prostata herleiten, während *E. Waldschmidt-Leitz* und *W. Nonnenbruch* sie auf die Auflösung der Erythrocyten zurückführten.

Wir untersuchten nun die Aktivität der Phosphatasen des Blutes, Serums und Harns bei chronischer myeloischer Leukämie sowie ihre Schwankung nach der Röntgenbestrahlung.

II. Methodisches.

Als Substrate haben wir das β-glycerophosphorsaure Natrium [$C_3H_5(OH)_2OPO_3Na_2 + 3\,H_2O$ (*Merck*); Phosphorgehalt 11,42 %] sowie

von uns selbst hergestelltes synthetisches monophenyl-phosphorsaures Kalium ($C_6H_5 . K_2PO_4$; Phosphorgehalt 9,39 %) verwandt und die Phosphatasenaktivität nach *Neuberg* und *Karzag* bestimmt.

Wir benutzten eine von der Originalvorschrift etwas abweichende Phosphataseeinheit, die 1931 von *Bodansky* zur Bestimmung der Phosphatasenaktivität des Blutserums vorgeschlagen wurde. Wir haben unsere Einheit auf die *Iwatsuru-Nanjo*sche 24-Stunden-Methode bezogen. Die Reagenzien sind folgende:

1. Gepufferte Glycerophosphorsäurelösung
   - β-glycerophosphorsaures Natrium . . . . . 5,0 g
   - Medinal (Mononatriumdiäthylbarbitursäure) (*Schering*) . . . . . 4,24 g
   - Aqua dest. . . . . auf 1000,0 ccm
2. 10 %ige Trichloressigsäure.
3. 0,25 %ige Ammoniaklösung.

Zur Bestimmung wurden je 10,0 ccm gepufferte Glycerophosphorsäurelösung, 1 ccm Blut (Serum oder Harn) und 0,1 ccm Toluol in zwei festverstopfte Kolben gegeben. Der eine Kolben, der 24 Stunden später mit 10,0 ccm 10 %iger Trichloressigsäure versetzt wurde und als Kontrolle diente, wurde sofort in Eiswasser getaucht, während der andere Kolben für den Hauptversuch sofort nach dem ersten Pipettieren 24 Stunden lang in den auf 38,0° eingestellten Brutschrank gestellt wurde. Nach dieser Zeitspanne wurde er in Eiswasser gestellt, um die Phosphatasenwirkung zu hemmen. Dann wurden 10,0 ccm 10 %iger Trichloressigsäure hinzugefügt. 15 ccm vom Filtrat der Lösung eines jeden Kolbens wurde durch Zugabe von je 4,0 ccm Ammon-Magnesiamischung und 0,25 %iger Ammoniaklösung gefällt, der Niederschlag in üblicher Weise verascht und als $Mg_2P_2O_7$ gewogen. Die geringe Menge Niederschlag in der Kontrolle, die von vorgebildeter anorganischer Phosphorsäure herrührt, wurde abgezogen.

Wir bekamen so den in Einheiten ausgedrückten Phosphatasenwert; Phosphatasenwert 1 bedeutet, daß 100,0 ccm Blut, Serum oder Harn 10,0 mg P abzuspalten vermögen.

In keinem Falle wurde Blut, Serum oder Harn verwandt, das mehr als 4 Stunden gestanden hatte.

III. Ergebnis.

1. Blut.

Tabelle I. Normales Menschenblut.

Erythrocytenzahl 4650000, Leukocytenzahl 4800, Hämatokritzahl 36.
Substrat: β-glycero-phosphorsaures Natrium.

Tage im Brutschrank:	1	3	5	7	10
$Mg_2P_2O_7$ in g	0,0000	0,0000	0,0002	0,0003	0,0003
Spaltungskraft in %	0	0	1,2	1,8	1,8

Tabelle II. Leukämisches Blut.

Erythrocytenzahl 3000000, Leukocytenzahl 220000, Hämatokritzahl 27. Myeloische Leukocyten 50,0%. Absolute Zahl 60720.

Tage im Brutschrank:	1	3	5	7	10
Substrat: β-glycero-phosphorsaures Natrium.					
$Mg_2P_2O_7$ in g	0,0007	0,0018	0,0028	0,0030	0,0030
Spaltungskraft in %	4,2	10,8	16,8	18,0	18,0
Substrat: monophenyl-phosphorsaures Kalium.					
$Mg_2P_2O_7$ in g	0,0000	0,0011	0,0012	0,0013	0,0017
Spaltungskraft in %	0	8,2	9,0	9,7	12,7

Die Phosphatasenaktivität des normalen Menschenblutes wurde als sehr gering gefunden, was mit den Ergebnissen *Umenos* und *Minamis* übereinstimmt. Dagegen zeigt ein Blut, das bei chronischer myeloischer Leukämie sehr viele Myelocyten enthält, gegen β-glycerophosphorsaures Natrium und monophenyl-phosphorsaures Kalium eine sehr ausgeprägte, gegenüber der Norm etwa zehnmal stärkere Phosphatasenaktivität. Je höher die Leukocytenzahl, desto größer ist der Phosphatasenwert.

2. Serum.

Tabelle III. Normales Menschenserum.

Substrat: β-glycero-phosphorsaures Natrium.

Tage im Brutschrank:	1	3	5	7	10
$Mg_2P_2O_7$ in g	0,0000	0,0001	0,0001	0,0002	0,0002
Spaltungskraft in %	0	0,6	0,6	1,2	1,2

Tabelle IV. Leukämisches Serum.

Tage im Brutschrank:	1	3	5	7	10
Substrat: β-glycero-phosphorsaures Natrium.					
$Mg_2P_2O_7$ in g	0,0005	0,0007	0,0011	0,0015	0,0017
Spaltungskraft in %	3,0	4,2	6,6	9,0	10,2
Substrat: monophenyl-phosphorsaures Kalium.					
$Mg_2P_2O_7$ in g	0,0002	0,0003	0,0006	0,0009	0,0012
Spaltungskraft in %	1,5	2,2	4,5	6,7	9,0

Die Phosphatasenaktivität des normalen Menschenserums ist beinahe null, aber immerhin sicher nachweisbar. Das Serum des chronischen, myeloischen Leukämikers hingegen zersetzt deutlich β-glycerophosphorsaures Natrium und monophenyl-phosphorsaures Kalium. Dabei ist merkwürdig, daß der Phosphatasenwert bei ein und demselben Kranken zeitlichen Schwankungen unterworfen ist.

3. Harn.

Tabelle V. Normaler Menschenharn.

Substrat: β-glycero-phosphorsaures Natrium.

Tage im Brutschrank:	1	3	5	7	10
$Mg_2P_2O_7$ in g	0,0000	0,0000	0,0001	0,0001	0,0001
Spaltungskraft in %	0	0	0,6	0,6	0,6

Tabelle VI. Leukämikerharn.

Tage im Brutschrank:	1	3	5	7	10
Substrat: β-glycero-phosphorsaures Natrium.					
$Mg_2P_2O_7$ in g	0,0028	0,0032	0,0041	0,0049	0,0054
Spaltungskraft in %	16,8	19,2	24,6	29,4	32,4
Substrat: monophenyl-phosphorsaures Kalium.					
$Mg_2P_2O_7$ in g	0,0013	0,0014	0,0017	0,0019	0,0021
Spaltungskraft in %	9,7	10,5	12,7	14,2	15,7

Die Phosphatasenaktivität des normalen Menschenharns ist, übereinstimmend mit dem Ergebnis *Umenos*, so gering, daß man sie selbst innerhalb von 48 Stunden nicht nachweisen kann. Der Harn des chronischen myeloischen Leukämikers dagegen zeigt gegen β-glycero-phosphorsaures Natrium und monophenyl-phosphorsaures Kalium ein sehr hohes Spaltungsvermögen. Auch hier verändert sich merkwürdigerweise der Wert bei ein und demselben Kranken zeitlich.

Wir untersuchten ferner an demselben chronisch-myeloischen Leukämiker nach einer Röntgentiefentherapie die Schwankungen des Phosphatasenwertes von Blut, Serum und Harn nach unserer 24 Stunden-Methode (Tabelle VII).

Nach der Röntgenbestrahlung vermindert sich die Leukocytenzahl mit jedem Tage beträchtlich, insbesondere verringert sich der Prozentsatz der myeloischen Leukocyten sowie ihre absolute Zahl. Etwa parallel dazu verringert sich der Phosphatasenwert des Blutes, während der Wert des Serums und etwas später derjenige des Harns zunimmt.

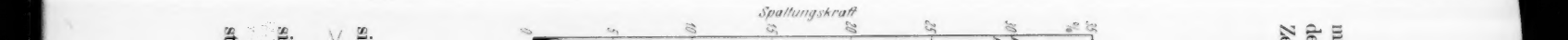
IV. Diskussion der Ergebnisse.

Unsere in den Abb. 1 bis 3 nochmals zusammengefaßten Ergebnisse führen uns zu folgender Vorstellung: Bei der myeloischen Leukämie findet im Blute eine kräftige Vermehrung der myeloischen Leukocyten statt, die große Mengen von Phosphatasen enthalten. Da die Zersetzung derselben stärker ist als im normalen Menschenblut, muß der Phosphatasenwert des Serums zunehmen. Die Serumphosphatase geht in den Harn über, wodurch sich der Phosphatasenwert desselben vermehren

Tabelle VII. Wirkung der Röntgentiefentherapie bei chronischer myeloischer Leukämie.

		▼ 26. III.			▼ 29. III.			
Datum:		24. III.	26. III.	27. III.	29. III.	30. III.	1. IV.	3. IV.
Nach der Bestrahlung:		Vor der Bestrahlung	4 Stunden	1 Tag	4 Stunden	1 Tag	3 Tage	5 Tage
Erythrocytenzahl		2 590 000	3 480 000	2 740 000	2 780 000	2 960 000	2 890 000	3 600 000
Leukocytenzahl		107 800	128 400	107 300	87 300	92 450	85 650	59 400
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %		53	53	53	53	53	53	53
Hämatokritzahl in Vol.-%		22	21	21	22	22	21	22
Leukocyten in %	basophile L.	0	0,3	0,1	0,1	0,3	0	0,2
	eosinophile L.	1,6	1,4	2,4	1,5	1,3	2,3	2,2
	Myeloblasten	6,7	0,2	0,5	0,4	0,9	0,3	0
	Promyelocyten	32,2	25,0	25,1	43,5	23,0	24,0	16,6
	Myelocyten	1,3	6,5	6,8	0,4	14,7	8,3	15,7
	Metamyelocyten	15,9	24,7	23,8	29,0	24,0	19,5	18,2
	stabkernige L.	17,4	17,5	16,6	9,5	12,7	14,8	15,8
	segmentkernige L.	18,4	22,5	23,0	14,4	20,0	26,3	28,9
	Lymphocyten	6,1	1,9	1,7	1,0	2,1	4,1	2,4
	Monocyten	0,4	0	0	0,2	0,1	0,1	0
Absolute Zahl der myeloischen L.		60 476	32 418	60 303	63 991	57 874	44 624	29 997
Phosphatasenwert in Einheiten	Blut	5,0	4,8	5,0	3,6	3,6	3,9	3,1
		5,0	5,0	4,8	3,9	3,6	3,9	3,4
	Serum	6,4	7,3	9,0	9,8	10,4	8,7	6,7
		7,0	7,0	9,2	9,5	10,1	8,7	7,0
	Harn	1,1	1,7	3,1	3,6	3,6	4,5	4,5
		1,7	2,0	3,4	3,9	3,9	4,5	4,8

▼ = Röntgenbestrahlung.



muß. Wir können also *R. Robison*s Behauptung, daß die Phosphatasen des normalen Menschenserums hauptsächlich von der natürlichen Zersetzung der Leukocyten des Blutes herrühren, beistimmen.

Abb. 1. Phosphatase beim Gesunden.

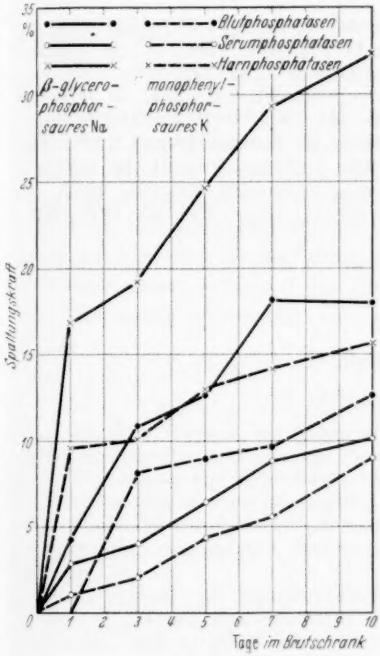


Abb. 2. Leukämiker.

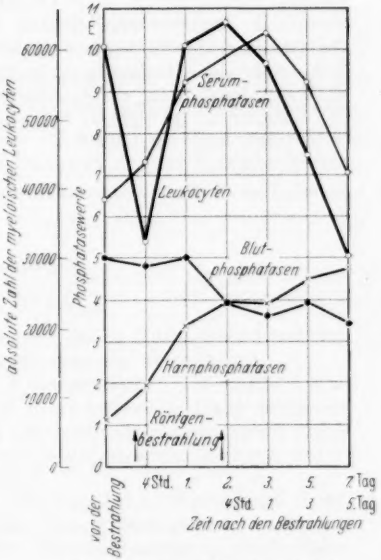


Abb. 3. Röntgen-Tiefentherapie bei chronischer myeloischer Leukämie.

Zusammenfassung.

1. Die Phosphatasenwerte des Menschenblutes, Serums und Harns sind beim normalen Menschen ganz gering. Die Reihenfolge ist: Blut > Serum > Harn; der Wert des letzteren ist nahezu gleich null.

2. Die Phosphatasenwerte des Blutes, Serums und Harns erhöhen sich auffallend bei der chronischen myeloischen Leukämie.

3. Führt man bei chronischer, myeloischer Leukämie Röntgenstrahlenbehandlung durch, so findet entsprechend der Verminderung

der Myelocyten eine Verkleinerung des Phosphatasenwertes im Blute statt, während derjenige des Serums und später auch derjenige des Harns sich vergrößert.

4. Die Befunde zeigen, daß die Erhöhung des Phosphatasenwertes des Blutes bei chronischer myeloischer Leukämie von der Vermehrung der myeloischen Leukocyten herrührt. Durch die Zersetzung der Leukocyten vergrößert sich der Phosphatasenwert des Serums und anschließend derjenige des Harns.

Literatur.

Neuberg u. *Karzag*, diese Zeitschr. **36**, 60, 1911. — *F. Demuth*, ebenda **159**, 420, 1925. — *R. Iwatsuru*, ebenda **173**, 348, 1926. — *M. Umeno*, ebenda **231**, 317, 1931. — *H. D. Kay*, Biochem. J. **89**, 249, 1930. — *O. Bodansky*, *H. L. Jaffe* u. *J. P. Chandler*, ebenda **97**, 16, 1931. — *R. Iwatsuru* u. *Y. Minami*, diese Zeitschr. **268**, 394, 1933. — *R. Robison*, Ergebn. Enzymforsch. **1**, 280, 1933. — *O. Bodansky*, Biochem. J. **101**, 93, 1933; **104**, 473, 1934. — *O. Bodansky* u. *H. L. Jaffe*, Arch. Int. Med. **54**, 88, 1934. — *E. Waldschmidt-Leitz* u. *W. Nonnenbruch*, Naturwiss. **23**, 164, 1935. — *W. Kutscher* u. *A. Wörner*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **235**, 63, 1935; **238**, 275, 1936; **239**, 109, 1936.

Studien über Phosphatase.

IX. Mitteilung:

Über den Einfluß der Ultraviolett-, Ultrarot- und Röntgenstrahlen auf die Phosphatase.

Von

Ryuzo Iwatsuru und Kimio Nanjo.

(Aus der II. medizinischen Klinik der Kaiserlichen Universität zu Osaka.)

(Eingegangen am 19. Dezember 1938.)

I. Einleitung.

Iwatsuru, *Umeno* und *Minami* haben bereits früher mitgeteilt, daß der Phosphatasewert des Blutes bei chronischer myeloischer Leukämie sich nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen in der Milzgegend bedeutend vermindert. Wir haben nun Bestrahlungen mit Ultraviolett-, Ultrarot- und Röntgenstrahlen in vitro wie auch in vivo vorgenommen und deren Einfluß auf die Lösung des Ferments aus der Rindensubstanz der Rinderniere sowie auf die Phosphatasewerte von Blut und Serum bei Kaninchen untersucht.

II. Methodisches.

1. Versuche in vitro.

Zu dem Versuch benutzten wir nach *Umeno* 2,5%ige und 5,0%ige Extrakte aus der getrockneten Rindensubstanz der Rinderniere.

Bestrahlung mit Ultraviolett- und Ultrarotstrahlen: Es wurde 1 und 2 Stunden lang in einer Entfernung von 50 cm bestrahlt. Dabei wurde die zur Kontrolle dienende Fermentlösung mit einer dicken schwarzen Pappe bedeckt und den gleichen Bedingungen wie die anderen Lösungen unterworfen.

Bestrahlung mit Röntgenstrahlen: 104 kV, 4 mA, Wellenlänge 0,097, Filter Al 1,0 mm, Abstand 23 cm. Unter diesen Bedingungen wurde mit 1,0 HED. und 2,0 HED. bestrahlt. Die Kontrollflüssigkeit wurde dabei mit einer 5,0 mm dicken Bleigummiplatte bedeckt.

Die Bestimmung der Phosphatasewerte erfolgte nach der Methode von *Neuberg-Karzag* bzw. von *Iwatsuru-Nanjo*.

2. Tierversuche.

Wir wählten für unsere Versuche weiße, männliche Kaninchen mit etwa 2,5 kg Körpergewicht. Die Tiere wurden mit Ultraviolett-, Ultrarot- und Röntgenstrahlen bestrahlt und die Veränderungen der Phosphatasewerte von Blut und Serum bestimmt. Dabei teilten wir die Tiere in zwei Gruppen ein; der ersten Gruppe wurde nur jeweils der Kopfteil bestrahlt, der zweiten Gruppe nur der Bauchteil, und zwar hauptsächlich in der Milz- und Lebergegend. Wir beabsichtigten damit, den Einfluß auf das Schädel-

mark bzw. auf die Organe im Leibe völlig voneinander getrennt zu halten. Bei der Bestrahlung mit Ultraviolett- und Ultrarotstrahlen wurde der betreffende Körperteil rasiert und der nicht zu bestrahlende Teil des Versuchstieres mit schwarzer Pappe verdeckt. Die Bestrahlung wurde wie in vitro in einem Abstand von 50 cm 2 Stunden lang durchgeführt.

Bei der Bestrahlung mit Röntgenstrahlen wurde der betreffende Körperteil frei gelassen und der übrige Teil mit 5 mm dicken Bleigummiplatten bedeckt; es wurde unter den vorerwähnten Bedingungen (Versuch in vitro) mit 1,0 HED. bestrahlt.

Zur Bestimmung der Phosphatasewerte in Blut und Serum wurde die *Iwatsuru-Nanjo*sche 24-Stunden-Methode verwandt. Zur Ermittlung der Schwankungen der Formelemente des Blutes wurden durch Blutzählung und Färbung Art und Prozente der Leukocyten festgestellt. In der Regel benutzten wir Blut und Serum sofort nach der Entnahme. Länger als 4 Stunden gestandenes Material wurde niemals verwandt.

III. Ergebnisse.

1. Versuche in vitro.

Tabelle I. Einfluß der Ultraviolettstrahlen.

a) 2,5%iger Extrakt aus Rindensubstanz der Rinderniere, 1 Stunde bestrahlt.

Nach der *Neuberg-Karzag*schen Methode.

Tage im Brutschrank	Nicht bestrahlt		1 Std. bestrahlt		2 Std. bestrahlt	
	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %
1	0,0109	66,5	0,0110	67,1	0,0109	66,5
3	0,0110	67,1	0,0115	70,2	0,0111	67,7
5	0,0125	76,3	0,0125	76,3	0,0126	76,9
7	0,0126	76,9	0,0128	78,1	0,0126	76,9
10	0,0141	86,0	0,0141	86,0	0,0140	85,4

Nach der *Iwatsuru-Nanjo*schen 24-Stunden-Methode.

	Nicht bestrahlt	1 Std. bestrahlt	2 Std. bestrahlt
Phosphatasewert in Einheiten ..	2,0	2,0	2,0

b) 5,0%iger Extrakt von Rindensubstanz der Rinderniere.

Nach der *Neuberg-Karzag*schen Methode.

Tage im Brutschrank	Nicht bestrahlt		1 Std. bestrahlt		2 Std. bestrahlt	
	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %
1	0,0119	72,6	0,0119	72,6	0,0121	73,8
3	0,0138	84,2	0,0145	88,5	0,0139	84,8
5	0,0168	100,0	0,0168	100,0	0,0168	100,0
7	0,0168	100,0	0,0168	100,0	0,0168	100,0
10	0,0168	100,0	0,0168	100,0	0,0168	100,0

Nach der *Iwatsuru-Nanjo*schen 24-Stunden-Methode.

	Nicht bestrahlt	1 Std. bestrahlt	2 Std. bestrahlt
Phosphatasewert in Einheiten ..	21,6	21,6	21,8

Tabelle II. Einfluß der Ultrarotstrahlen.

a) 2,5 %iger Extrakt aus Rindensubstanz der Rinderniere.

Nach der *Neuberg-Karzag*schen Methode.

Tage im Brutschrank	Nicht bestrahlt		1 Std. bestrahlt		2 Std. bestrahlt	
	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %
1	0,0109	66,5	0,0112	68,3	0,0110	67,1
3	0,0110	67,1	0,0114	69,5	0,0111	67,7
5	0,0125	76,3	0,0127	77,5	0,0128	78,1
7	0,0126	76,9	0,0127	77,5	0,0128	78,1
10	0,0141	86,0	0,0141	86,0	0,0141	86,0

Nach der *Iwatsuru-Nanjo*schen 24-Stunden-Methode.

	Nicht bestrahlt	1 Std. bestrahlt	2 Std. bestrahlt
Phosphatasewert in Einheiten ..	2,0	2,0	2,0

b) 5,0 %iger Extrakt von Rindensubstanz der Rinderniere.

Nach der *Neuberg-Karzag*schen Methode.

Tage im Brutschrank	Nicht bestrahlt		1 Std. bestrahlt		2 Std. bestrahlt	
	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %
1	0,0119	72,6	0,0121	73,6	0,0122	74,4
3	0,0138	84,2	0,0143	87,2	0,0142	86,6
5	0,0168	100,0	0,0168	100,0	0,0168	100,0
7	0,0168	100,0	0,0168	100,0	0,0168	100,0
10	0,0168	100,0	0,0168	100,0	0,0168	100,0

Nach der *Iwatsuru-Nanjo*schen 24-Stunden-Methode.

	Nicht bestrahlt	1 Std. bestrahlt	2 Std. bestrahlt
Phosphatasewert in Einheiten ..	21,6	21,6	21,6

Auch die Bestrahlung mit Ultrarotstrahlen beeinflußt also die Phosphatasewerte in keiner Weise.

Tabelle III. Einfluß der Röntgenstrahlen.

a) 2,5%iger Extrakt von Rindensubstanz der Rinderniere.

Nach der *Neuberg-Karzag*schen Methode.

Tage im Brutschrank	Nicht bestrahlt		Mit 1 HED. bestrahlt		Mit 2 HED. bestrahlt	
	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %
1	0,0066	40,3	0,0067	40,9	0,0067	40,9
3	0,0093	56,7	0,0095	58,0	0,0097	59,2
5	0,0113	68,9	0,0113	68,9	0,0112	68,3
7	0,0120	73,2	0,0126	76,9	0,0126	76,9
10	0,0131	79,9	0,0131	79,9	0,0131	79,9

Nach der *Iwatsuru-Nanjo*schen 24-Stunden-Methode.

	Nicht bestrahlt	Mit 1 HED. bestrahlt	Mit 2 HED. bestrahlt
Phosphatasewert in Einheiten . .	3,7	3,9	3,9

b) 5,0%iger Extrakt von Rindensubstanz der Rinderniere.

Nach der *Neuberg-Karzag*schen Methode.

Tage im Brutschrank	Nicht bestrahlt		Mit 1 HED. bestrahlt		Mit 2 HED. bestrahlt	
	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %	$Mg_2P_2O_7$ g	Spaltung %
1	0,0119	72,6	0,0120	73,2	0,0120	73,2
3	0,0138	84,2	0,0139	84,8	0,0138	84,2
5	0,0168	100,0	0,0168	100,0	0,0168	100,0
7	0,0168	100,0	0,0168	100,0	0,0168	100,0
10	0,0168	100,0	0,0168	100,0	0,0168	100,0

Nach der *Iwatsuru-Nanjo*schen 24-Stunden-Methode.

	Nicht bestrahlt	Mit 1 HED. bestrahlt	Mit 2 HED. bestrahlt
Phosphatasewert in Einheiten . .	21,6	21,0	21,0

Nach den in den Tabellen I bis III wiedergegebenen Ergebnissen werden Phosphataselösungen durch Bestrahlung mit Ultrarot-, Ultraviolett- oder Röntgenstrahlen nicht beeinflußt.

2. Tierversuche.

Für den Vorversuch entnahmen wir drei Kaninchen wiederholt ziemlich große Mengen Blut und beobachteten daran die eingetretenen Schwankungen der Phosphatasewerte im Blut und Serum. Obwohl alle 5 Tage je 10,0 ccm Blut entnommen wurden, kamen kaum Schwankungen im Blutbild bzw. den Phosphatasewerten des Blutes und Serums vor (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Datum:		20. V.	27. V.	3. VI.	10. VI.	17. VI.	24. VI.
Entnommene Blutmenge (Gesamtmenge) in ccm		10	10 (20)	10 (30)	10 (40)	10 (50)	10 (60)
Körpergewicht in kg		2,500	2,500	2,450	2,470	2,470	2,480
Erythrocytenzahl (10^4)		618	609,5	612	606	604	612
Leukocytenzahl		10 800	11 000	10 650	10 500	11 200	10 700
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %		98	99	100	100	97	98
Hämatokritzahl in Vol.-%		41	40	40	41	40	40
Leukocytenarten in %	neutrophile L.	37,8	40,0	40,5	37,8	39,6	38,5
	eosinophile L.	0,4	0,6	0,4	0,7	0,4	0,6
	basophile L.	0	0	0	0	0	0
	Lymphocytenzahl	60,6	58,4	57,9	59,0	58,0	58,8
	sonstige L.	1,0	1,0	1,2	2,5	2,6	2,1
Phosphatasewert in Einheiten	Blut	9,8	9,8	9,8	9,5	9,5	9,5
		9,8	9,5	10,1	9,5	9,5	9,5
	Serum	3,9	3,9	3,6	3,9	3,6	3,9
		3,9	3,9	3,6	4,2	3,6	3,9

„Sonstige L." umfaßt Promyelocyten, Myelocyten, Metamyelocyten und Monocyten.

Aus den in den Tabellen V bis VII wiedergegebenen Versuchsergebnissen geht hervor, daß die zweistündige Bestrahlung mit Ultraviolettstrahlen in einer Entfernung von 50 cm bei Kaninchen am Tage nach der Bestrahlung eine Vermehrung der Leukocytenzahl, und zwar der neutrophilen Leukocyten sowohl im Prozentsatz als auch in ihrer absoluten Zahl (letztere um etwa 80%) zur Folge hat, und damit auch eine dementsprechende Vergrößerung der Phosphatasewerte des Blutes und Serums (letzteres etwa 80%). Das Blutbild sowie die Phosphatasewerte nähern sich im Laufe der Tage wieder dem Zustand vor der Bestrahlung; 10 Tage nach derselben ist fast das alte Verhältnis wieder erreicht. Die Schwankungen des Blutbildes sowie der Phosphatasewerte von Blut und Serum sind bei der Bestrahlung am Bauche größer als bei derjenigen am Kopfe.

Die Bestrahlung mit Ultraviolettstrahlen ruft demnach eine Vermehrung der neutrophilen Leukocyten im Blute hervor; als Folge davon erhöht sich der Phosphatasewert des Blutes und dementsprechend auch der des Serums.

Die zweistündige Bestrahlung mit Ultrarotstrahlen am Kopf oder Bauch des Kaninchens in einer Entfernung von 50 cm bewirkt keine Schwankungen des Blutbildes oder der Phosphatasewerte von Blut und Serum. Über langandauernde und wiederholte Bestrahlungen können wir an dieser Stelle nicht sprechen.

Tabelle V. Einfluß der Ultraviolettstrahlen.

	Datum:	17. VIII.	23. VIII.	27. VIII.	31. VIII.
a) Bestrahlung am Bauch.					
Erythrocytenzahl (10^4)		520	524	519	512
Leukocytenzahl		12 000	14 200	10 400	11 800
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %		80	82	83	82
Hämatokritzahl in Vol.-%		31	32	32	31
Leukocytenarten in %	neutrophile stabkernige L.	2,4	6,8	3,2	2,9
	„ segmentkernige L.	16,4	22,4	17,2	16,8
	eosinophile L.	0,4	0	0,4	0,3
	basophile L.	0	0	0	0
	Lymphocyten	79,2	66,4	76,7	77,6
	sonstige L.	1,6	4,4	2,5	2,4
Phosphatasewert in Einheiten	Blut	2,5	4,5	3,1	2,5
		2,5	4,2	2,8	2,5
	Serum	0,8	2,0	1,1	1,1
		0,8	1,7	1,1	1,1
b) Bestrahlung am Kopf.					
Erythrocytenzahl (10^4)		510	500	498	501
Leukocytenzahl		9900	12 000	11 500	9700
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %		83	83	82	85
Hämatokritzahl in Vol.-%		37	37	36	37
Leukocytenarten in %	neutrophile stabkernige L.	4,2	5,6	4,7	4,5
	„ segmentkernige L.	22,3	23,9	23,0	22,0
	eosinophile L.	0,2	0,3	0,2	0,2
	basophile L.	0	0	0	0
	Lymphocyten	71,3	67,9	69,9	71,3
	sonstige L.	2,0	2,3	2,2	2,0
Phosphatasewert in Einheiten	Blut	5,6	6,7	5,9	5,6
		5,6	7,0	5,9	5,6
	Serum	0,6	1,4	0,6	0,6
		0,6	1,4	0,8	0,6

Tabelle VI. Einfluß der Ultrarotstrahlen.

	Datum:	21. VIII.	26. VIII.	31. VIII.	5. IX.
a) Bestrahlung am Bauch.					
Erythrocytenzahl (10^4)		518	520	508	516
Leukocytenzahl		8000	8700	7900	8100
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %		97	94	95	96
Hämatokritzahl in Vol.-%		42	40	41	41
Leukocytenarten in %	neutrophile stabkernige L.	3,0	2,8	3,1	3,2
	„ segmentkernige L.	21,6	21,8	20,9	21,4
	eosinophile L.	0,2	0,2	0,2	0,3
	basophile L.	0	0	0	0
	Lymphocyten	73,2	73,0	73,8	73,2
	sonstige L.	2,0	2,2	2,0	1,9
Phosphatasewert in Einheiten	Blut	5,3	5,6	5,6	5,3
		5,3	5,6	5,3	5,3
	Serum	1,1	1,1	1,1	1,1
		1,1	1,1	1,1	1,1

Datum:	21. VIII.	26. VIII.	31. VIII.	5. IX.
b) Bestrahlung am Kopf.				
Erythrocytenzahl (10^4)	530	532	531	528
Leukocytenzahl	10 200	10 300	11 000	10 000
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %	90	90	91	92
Hämatokritzahl in Vol.-%	37	37	36	38
Leukocytenarten in %: neutrophile stabkernige L.	2,8	2,6	2,9	3,0
„ segmentkernige L.	23,5	24,0	23,8	23,6
eosinophile L.	0,3	0,3	0,2	0,3
basophile L.	0	0	0	0
Lymphocyten	73,4	71,5	71,3	71,1
sonstige L.	1,8	1,6	1,8	2,0
Phosphatasewert in Einheiten: Blut	4,2	4,2	4,2	4,2
	4,2	4,2	4,5	4,2
Serum	0,8	1,1	0,8	0,8
	0,8	1,1	0,8	0,8

Tabelle VII. Einfluß der Röntgenstrahlen.

Datum:	17. VIII.	23. VIII.	27. VIII.	31. VIII.
a) Bestrahlung am Bauch.				
Erythrocytenzahl (10^4)	504	408	440	448
Leukocytenzahl	9400	7150	6900	8900
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %	95	95	95	97
Hämatokritzahl in Vol.-%	36	36	38	38
Leukocytenarten in %: neutrophile stabkernige L.	2,0	3,2	2,5	2,4
„ segmentkernige L.	35,4	28,3	32,1	34,0
eosinophile L.	1,0	0,8	0,9	0,8
basophile L.	0	0	0	0
Lymphocyten	57,8	62,5	59,3	58,2
sonstige L.	3,8	5,2	5,2	4,6
Phosphatasewert in Einheiten: Blut	4,5	2,8	4,2	4,8
	4,8	2,5	3,9	4,5
Serum	1,4	2,0	1,4	1,1
	1,1	2,0	1,1	1,1
b) Bestrahlung am Kopf.				
Erythrocytenzahl (10^4)	580	564	559	568
Leukocytenzahl	11 600	10 200	11 000	10 800
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %	90	90	89	88
Hämatokritzahl in Vol.-%	35	35	34	35
Leukocytenarten in %: neutrophile stabkernige L.	4,6	3,4	4,0	4,2
„ segmentkernige L.	39,2	34,6	35,8	37,8
eosinophile L.	0,2	0,3	0,4	0,2
basophile L.	0	0	0	0
Lymphocyten	52,2	58,2	56,2	54,4
sonstige L.	3,8	3,5	3,6	3,4
Phosphatasewert in Einheiten: Blut	4,8	3,9	4,8	4,5
	4,8	3,6	4,8	4,8
Serum	1,4	2,0	1,4	1,7
	1,1	2,0	1,4	1,4

Tabelle V. Einfluß der Ultraviolettstrahlen.

	Datum:	17. VIII.	23. VIII.	27. VIII.	31. VIII.
a) Bestrahlung am Bauch.					
Erythrocytenzahl (10^4)		520	524	519	512
Leukocytenzahl		12 000	14 200	10 400	11 800
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %		80	82	83	82
Hämatokritzahl in Vol.-%		31	32	32	31
Leukocytenarten in %	neutrophile stabkernige L.	2,4	6,8	3,2	2,9
	„ segmentkernige L.	16,4	22,4	17,2	16,8
	eosinophile L.	0,4	0	0,4	0,3
	basophile L.	0	0	0	0
	Lymphocyten	79,2	66,4	76,7	77,6
	sonstige L.	1,6	4,4	2,5	2,4
Phosphatasewert in Einheiten	Blut	2,5	4,5	3,1	2,5
		2,5	4,2	2,8	2,5
	Serum	0,8	2,0	1,1	1,1
		0,8	1,7	1,1	1,1
b) Bestrahlung am Kopf.					
Erythrocytenzahl (10^4)		510	500	498	501
Leukocytenzahl		9900	12 000	11 500	9700
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %		83	83	82	85
Hämatokritzahl in Vol.-%		37	37	36	37
Leukocytenarten in %	neutrophile stabkernige L.	4,2	5,6	4,7	4,5
	„ segmentkernige L.	22,3	23,9	23,0	22,0
	eosinophile L.	0,2	0,3	0,2	0,2
	basophile L.	0	0	0	0
	Lymphocyten	71,3	67,9	69,9	71,3
	sonstige L.	2,0	2,3	2,2	2,0
Phosphatasewert in Einheiten	Blut	5,6	6,7	5,9	5,6
		5,6	7,0	5,9	5,6
	Serum	0,6	1,4	0,6	0,6
		0,6	1,4	0,8	0,6

Tabelle VI. Einfluß der Ultrarotstrahlen.

	Datum:	21. VIII.	26. VIII.	31. VIII.	5. IX.
a) Bestrahlung am Bauch.					
Erythrocytenzahl (10^4)		518	520	508	516
Leukocytenzahl		8000	8700	7900	8100
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %		97	94	95	96
Hämatokritzahl in Vol.-%		42	40	41	41
Leukocytenarten in %	neutrophile stabkernige L.	3,0	2,8	3,1	3,2
	„ segmentkernige L.	21,6	21,8	20,9	21,4
	eosinophile L.	0,2	0,2	0,2	0,3
	basophile L.	0	0	0	0
	Lymphocyten	73,2	73,0	73,8	73,2
	sonstige L.	2,0	2,2	2,0	1,9
Phosphatasewert in Einheiten	Blut	5,3	5,6	5,6	5,3
		5,3	5,6	5,3	5,3
	Serum	1,1	1,1	1,1	1,1
		1,1	1,1	1,1	1,1

Datum:	21. VIII.	26. VIII.	31. VIII.	5. IX.
b) Bestrahlung am Kopf.				
Erythrocytenzahl (10^4)	530	532	531	528
Leukocytenzahl	10 200	10 300	11 000	10 000
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %	90	90	91	92
Hämatokritzahl in Vol.-%	37	37	36	38
Leukocytenarten in %: neutrophile stabkernige L.	2,8	2,6	2,9	3,0
„ segmentkernige L.	23,5	24,0	23,8	23,6
eosinophile L.	0,3	0,3	0,2	0,3
basophile L.	0	0	0	0
Lymphocyten	73,4	71,5	71,3	71,1
sonstige L.	1,8	1,6	1,8	2,0
Phosphatasewert in Einheiten: Blut	4,2	4,2	4,2	4,2
	4,2	4,2	4,5	4,2
Serum	0,8	1,1	0,8	0,8
	0,8	1,1	0,8	0,8

Tabelle VII. Einfluß der Röntgenstrahlen.

Datum:	17. VIII.	23. VIII.	27. VIII.	31. VIII.
a) Bestrahlung am Bauch.				
Erythrocytenzahl (10^4)	504	408	440	448
Leukocytenzahl	9400	7150	6900	8900
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %	95	95	95	97
Hämatokritzahl in Vol.-%	36	36	38	38
Leukocytenarten in %: neutrophile stabkernige L.	2,0	3,2	2,5	2,4
„ segmentkernige L.	35,4	28,3	32,1	34,0
eosinophile L.	1,0	0,8	0,9	0,8
basophile L.	0	0	0	0
Lymphocyten	57,8	62,5	59,3	58,2
sonstige L.	3,8	5,2	5,2	4,6
Phosphatasewert in Einheiten: Blut	4,5	2,8	4,2	4,8
	4,8	2,5	3,9	4,5
Serum	1,4	2,0	1,4	1,1
	1,1	2,0	1,1	1,1
b) Bestrahlung am Kopf.				
Erythrocytenzahl (10^4)	580	564	559	568
Leukocytenzahl	11 600	10 200	11 000	10 800
Hb-Gehalt nach *Sahli* in %	90	90	89	88
Hämatokritzahl in Vol.-%	35	35	34	35
Leukocytenarten in %: neutrophile stabkernige L.	4,6	3,4	4,0	4,2
„ segmentkernige L.	39,2	34,6	35,8	37,8
eosinophile L.	0,2	0,3	0,4	0,2
basophile L.	0	0	0	0
Lymphocyten	52,2	58,2	56,2	54,4
sonstige L.	3,8	3,5	3,6	3,4
Phosphatasewert in Einheiten: Blut	4,8	3,9	4,8	4,5
	4,8	3,6	4,8	4,8
Serum	1,4	2,0	1,4	1,7
	1,1	2,0	1,4	1,4

Die Bestrahlung mit Röntgenstrahlen (1,0 HED.) am Kopf oder Bauch des Kaninchens hat am ersten Tage nach der Bestrahlung Verringerung der Leukocytenzahl zur Folge: Die neutrophilen segmentkernigen Leukocyten verringern sich sowohl relativ als auch absolut (bis zu etwa 40% Verringerung); die neutrophilen stabkernigen Leukocyten und Lymphocyten zeigen eine kleine Zunahme ihres Prozentsatzes. Der Phosphatasewert des Blutes nimmt um etwa 35% ab, während der des Serums etwas zunimmt. Dann aber nähern sich im Laufe der Tage sowohl das Blutbild sowie die Phosphatasewerte von Blut und Serum wieder den Werten vor der Bestrahlung. Der Grad dieser Schwankungen ist bei Bestrahlung am Bauche größer als bei derjenigen am Kopfe.

Der Phosphatasewert vermindert sich, weil die neutrophilen segmentkernigen Leukocyten im Blute durch die Röntgenbestrahlung vermindert werden. *Das Phosphataseferment der Leukocyten wird durch die Zersetzung derselben bei der Röntgenbestrahlung frei und geht ins Serum über, was die Vergrößerung des Phosphatasewertes des Serums zur Folge hat.*

Da die Verminderung der neutrophilen Leukocyten bei der Bestrahlung am Bauche größer ist als bei derjenigen am Kopfe, ist die Verminderung des Phosphatasewertes des Blutes sowie die Vermehrung desjenigen des Serums auch bei der Bestrahlung am Bauch größer als bei der Bestrahlung am Kopfe.

Zusammenfassung.

1. Die Bestrahlung der Fermentlösung aus der Rindensubstanz der Rinderniere mit Ultraviolett-, Ultrarot- und Röntgenstrahlen beeinflußt den Phosphatasewert in keiner Weise.

2. Die Schwankungen der Phosphatasewerte von Blut und Serum bei gesunden Kaninchen rühren von Schwankungen der neutrophilen segmentkernigen Leukocyten im Blute, bzw. von der Zerstörung derselben her.

Literatur.

Neuberg u. *Karzag*, diese Zeitschr. **36**, 60, 1911. — *M. Umeno*, ebenda **231**, 317, 239, 1931.

Autorenverzeichnis.

Balassa, G., und *G. Emödi.* Über die Quellung der Haut. S. 292.

Bednarczyk, Wł., und *L. Marchlewski.* Zur Kenntnis reduzierender Zucker. V. S. 42.

— — Zur Kenntnis der Azine. S. 46.

Beyer, Karl. Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Äther in Luft. S. 113.

Botezatu, Mihai s. *Ion Claudatus.*

Brock, N., H. Druckrey und *H. Herken.* Untersuchungen über „Glykolyse". S. 1.

Brömel, H. s. *E. Negelein.*

Cholewiński, J., und *L. Marchlewski.* Absorption kurzwelligen Lichtes durch Indirubin und Indigotin. S. 56.

Claudatus, Ion, und *Mihai Botezatu.* Genaue Mikrobestimmung des Harnstoffs in biologischen Flüssigkeiten durch Oxydation des Dixanthylharnstoffs mit Jodat. S. 325.

Deleano, N. T., und *J. Dick.* Über den Chlorophyllverlust trocknender Laubblätter und über Chlorophyllextraktion. S. 37.

Dick, J. s. *N. T. Deleano.*

Druckrey, H. s. *N. Brock.*

Dyckerhoff, H., und *F. Schörcher.* Über die Beziehungen zwischen den „Frühgiften" und den Komponenten des Blutgerinnungssystems. I. Mitteilung über Frühgifte. S. 193.

— — und *I. Torres.* Über die Darstellung einer toxischen Substanz (Myotoxin) aus frischem Muskelgewebe. II. Mitteilung über Frühgifte. S. 198.

Ebihara, Tsutomu s. *Akiji Fujita.*

Emödi, G. s. *G. Balassa.*

Fink, Hermann, und *Felix Just.* Zur Biochemie der Torula utilis. II. Mitteilung: Über die Zusammensetzung der Hefesubstanz, insbesondere des Hefeeiweißes. S. 84.

— und *Jos. Krebs.* Beiträge zur biologischen Zellsubstanz-Synthese der Hefe. III. Mitteilung: Hefezüchtung in einfachen Kohlenstoffverbindungen. S. 59.

— — Beiträge zur biologischen Zellsubstanzsynthese der Hefe. IV. Mitteilung: Dauerzüchtungsversuche mit einfachen Kohlenstoffverbindungen. S. 175.

Fischer, W. H. s. *K. Miescher.*

Fujita, Akiji, und *Isamu Numata.* Über die kolorimetrische Bestimmung des Glutathions. I. Mitteilung: Bestimmung des reduzierten Glutathions. S. 246.

— — Über die kolorimetrische Bestimmung des Glutathions. II. Mitteilung: Bestimmung des Gesamtglutathions. S. 257.

— — Über die kolorimetrische Bestimmung von Cystein und Cystin. S. 264.

— und *Tsutomu Ebihara.* Über die kolorimetrische Bestimmung des Vitamins C. S. 136.

— — Über die Verteilung des Vitamins C in tierischen und pflanzlichen Geweben. II. S. 143.

Giedroyć, W. s. *St. J. von Przyłęcki.*

Hansen, Lorang, und *Karl Wülfert.* Ein einfacher und genauer Apparat zur Herstellung gleich großer Tropfen. S. 328.

Hartelius, Vagn. Steigerung der Wuchsstoffwirkung der Bierwürze durch Behandlung mit Alkali oder Salzsäure. S. 381.

Hatakeyama, Tatuo, Kyutaro Takahasi, Yasuo Tutumi und *Kaoru Yamazaki.* Versuche zur Fettbelastungsprobe beim Diabetiker. S. 392.

— — — — Über die Veränderungen des Plasmafettgehalts beim Diabetes mellitus. S. 403.

Herken, H. s. *N. Brock.*

Hinsberg, K., und *G. Lahn.* Über die Wirkung von Porphyrin, Cholat, Phosphat und Citrat auf die Autoxydation der Leinölsäure in Pufferlösung. S. 301.

— und *H. Nowakowski.* Autoxydation von Leinölsäure in Gegenwart von Porphyrinen. S. 313.

Illig, Rudolf s. *Richard Lechner.*

Iwatsuru, Ryuzo, und *Kimio Nanjo.* Studien über Phosphatase. VIII. Mitteilung: Über die Phosphatasenaktivität des Blutes, Serums und Harns bei chronischer myeloischer Leukämie. S. 422.

— — Studien über Phosphatase. IX. Mitteilung: Über den Einfluß der Ultraviolett-, Ultrarot- und Röntgenstrahlen auf die Phosphatase. S. 429.

Just, Felix s. *Hermann Fink.*

Klemen, R., und *D. Stucin.* Über den mittels verschiedener Methoden bestimmten zeitlichen Verlauf der Zuckerbildung in Weizenautolysaten. S. 338.

Klingmüller, Volker s. *Kurt Kruyk.*

Kolaczkowska, M. s. *St. J. von Przyłęcki.*

Krebs, Jos. s. *Hermann Fink.*

Kruyk, Kurt, und *Volker Klingmüller.* Über Vorgänge bei der alkoholischen Gärung der lebenden Hefe. S. 343.

Lahn, G. s. *K. Hinsberg.*

Lechner, Richard. Über die Ausnutzung der Pentosen bei der biologischen Eiweißsynthese. III. Mitteilung: Züchtung von Torula utilis in Xylose und Xylose-Glucosemischungen. S. 204.

Lechner, Richard, und *Rudolf Illig.* Über die Ausnutzung der Pentosen bei der biologischen Eiweißsynthese. II. Mitteilung: Aufstellung von Pentosenbilanzen bei der Züchtung von Torula utilis in synthetischen und technischen Nährsubstraten. S. 28.

Lesmüller, A. s. *J. Schwaibold.*

Lundegårdh, H. Über biologische Grenzflächenpotentiale. S. 167.

Marchlewski, L. s. *J. Cholewiński.*

— s. *Wł. Bednarczyk.*

Maschmann, Ernst. Zur Kenntnis der Proteasen des B. sporogenes. Über eine neue Proteinase und über aktivierbare Peptidasen. S. 89.

Matula, Johann. Physikalisch-chemische Untersuchungen an methyliertem Glutin. S. 284.

Mellander, Olof. Elektrophoretische Untersuchung von Casein. S. 240.

Meyer, Hans Heinrich. Die Darstellung von l-Ascorbinsäure (Vitamin C) aus den Tonsillen des Menschen und des Rindes in kristallisierter Form. S. 297.

Miescher, K., W. H. Fischer und *E. Tschopp.* Über die Wirkung einiger Enolester des Testosterons. S. 14.

Nanjo, Kimio s. *Ryuzo Iwatsuru.*

Negelein, E., und *H. Brömel.* Protein der d-Aminosäureoxydase. S. 225.

Nowakowski, H. s. *K. Hinsberg.*

Numata, Isamu s. *Akiji Fujita.*

Oberdisse, K. Über die spezifisch-dynamische Wirkung und die Desaminierung der Aminosäuren. S. 183.

Pandalai, Krishnan Madhusudanan. Biochemie der Nitritbildung. II. Mitteilung: Ist mit der Nitritbildung eine Dehydrierung verbunden. S. 122.

Paulmann, Friedrich Karl. Weitere Untersuchungen an einem wachstums- und zellteilungsfördernden Stoff in Keimpflanzen. S. 153.

Przyłęcki, St. J. von, M. Kolaczkowska und *W. Giedroyć.* Über Darstellung und Eigenschaften des nichtdissoziierten Glykokolls. S. 128.

Reichel, Ludwig, und *Oskar Schmid.* Über den Mechanismus der Synthese von Fettsäuren und Fett durch den Hefepilz Endomyces vernalis. S. 274.

Riesser, O. Untersuchungen über die Wirkung hoher Coffeingaben auf den Muskelstoffwechsel der weißen Ratte. S. 208.

Rohner, F., und *F. Roulet.* Flavinsynthese durch Tuberkelbazillen. S. 148.

Roulet, F. s. *F. Rohner.*

Runnström, J. s. *E. Sperber.*

Schmid, Oskar s. *Ludwig Reichel.*

Schörcher, F. s. *H. Dyckerhoff.*

Schwaibold, J., und *A. Lesmüller.* Die Bestimmung kleiner Mengen Kupfer, Blei und Zink mit Dithizon, mit besonderer Hinsicht auf ihre Bestimmung in biochemischen Materialien. II. Die Veraschung. S. 331.

So, K. s. *K. Yamafuji.*

Sperber, E., und *J. Runnström.* Über die Konkurrenz einiger Substrate um die Enzyme der lebenden Zellen der Bäckerhefe. S. 373.

Stucin, D. s. *R. Klemen.*

Takahasi, Kyutaro s. *Tatuo Hatakeyama.*

Täufel, K., H. Thaler und *G. Widmann.* Vorkommen und Bestimmung von Squalen in pflanzlichen und tierischen Fetten. S. 354.

Thaler, H. s. *K. Täufel.*

Tin, H. s. *K. Yamafuji.*

Torres, I. s. *H. Dyckerhoff.*

Tschopp, E. s. *K. Miescher.*

Tutumi, Yasuo s. *Tatuo Hatakeyama.*

Widmann, G. s. *K. Täufel.*

Wülfert, Karl s. *Lorang, Hansen.*

Yamafuji, K., K. So und *H. Tin.* Photochemische Autoxydation und biologische Wasserzersetzung. S. 414.

Yamasaki, Izue. Über Flavine, die bei der Gärung von Aceton-Butylalkoholbacterien gebildet werden (Gärungsflavine). I. Mitteilung: Über Gärungsflavin aus Reis. S. 160.

Yamazaki, Kaoru s. *Tatuo Hatakeyama.*

Zeller, Alfred. Die Bestimmung von 0,3 bis 50 mg Glucose mit dem Verfahren von Hagedorn und Jensen. S. 78.

— Eine Nährlösung zur physiologischen Regeneration von Mikroorganismen. S. 82.